

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS**  
Sección de Biológicas.



TESIS DOCTORAL

**Interacciones entre productos tensoactivos y algunos  
microorganismos de lodo de río**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**María Jesús Agra-Cadarso Gil**

Madrid, 2015



T 661.185  
AGR  
int



INTERACCIONES ENTRE PRODUCTOS TENSOACTIVOS Y  
ALGUNOS MICROORGANISMOS DE LODO DE RIO

*M<sup>e</sup> Jesús Aguirre-Cerdano*

R. 23.456

Este trabajo ha sido realizado en el Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Complutense de Madrid, bajo la dirección de su Catedrático Jefe, Prof. Dr. D. DIMAS FERNANDEZ-GALIANO FERNANDEZ, a quien deseo expresar mi más sincero agradecimiento.

Agradezco también al Prof. Dr. D. José Antonio Arroyo Merino el apoyo y la orientación que en todo momento me ha dispensado.

Asimismo mi gratitud a todos mis compañeros del Departamento, que siempre han contribuido con incondicional y eficaz ayuda.

- I N D I C E -

	<u>Pág.</u>
I.- INTRODUCCION .....	2
II.- PRODUCTOS TENSOACTIVOS Y DETERGENTES	
II.1.- Propiedades físicas.....	6
II.2.- Constitución química.....	7
II.3.- Tipos de tensoactivos.....	9
III.-BIODEGRACION DE PRODUCTOS TENSOACTIVOS	
III.1.-Microbios que intervienen en estos procesos.	16
III.2.-Interacciones tensoactivos-bacterias.....	18
III.3.-Principales mecanismos de ataque microbiano a tensoactivos.....	21
IV.- LOS CICLOS BIOLOGICOS DEL NITROGENO Y DEL CARBONO	
IV.1.- El Ciclo del Nitrógeno.....	30
IV.2.- El Ciclo del Carbono.....	37
V.- ELECCION Y OBJETO DEL TEMA.....	41
VI.- MATERIAL Y METODOS.	
VI.1.- Productos tensoactivos .....	45
VI.2.- El lodo.....	46
VI.3.- Las estirpes bacterianas.....	47
VI.4.- Los aparatos.....	50
VI.5.- Los medios de cultivo.....	50
VI.6.- Los reactivos .....	53
VI.7,- Influencia de los tensoactivos sobre la - microflora total de las nuestras de lodo...	53
VI.8.- Tolerancia de las estirpes bacterianas ais- ladas frente a distintas dosis de tensoacti <u>v</u> vos.....	54
VI.9.- Influencia sobre algunos procesos del Ciclo del Nitrógeno.....	54



VI.10.- Influencia sobre algunos aspectos del Ciclo del Carbono.....	56
VI.11.- Cultivos en agitación y obtención de muestras para espectroscopia de infra- rojos.....	57
VI.12.- Espectroscopia infrarroja.....	59
VII.- ESQUEMA DEL TRABAJO PROPUESTO.....	60
VIII.-EXPOSICION E INTERPRETACION DE RESULTADOS	
VIII.1.- Influencia de la concentración de ten- soactivos sobre la microflora total de las muestras de lodo.....	64
Interpretación de resultados .....	75
VIII.2.- Tolerancia de las estirpes bacterianas aisladas frente a distintas dosis de Fe- nopon T 77 y Sodio Dodecil Sulfato.....	82
VIII.3.- Influencia sobre algunos procesos del Ciclo del Nitrógeno :	
VIII.3.1.- Influencia sobre la Amonificación y la Nitrificación.....	140
VIII.3.2.- Influencia sobre la Desnitri- ficación.....	156
VIII.3.3.- Influencia sobre la Fijación libre aerobia del Nitrógeno - atmosférico.....	181
VIII.3.4.- Interpretación de resultados	183
VIII.4.- Influencia sobre algunos aspectos del Ciclo del Carbono :	
VIII.4.1.- Influencia sobre la Amilolisis	190
VIII.4.2.- Influencia sobre la Celulolisis aero bia.....	202
VIII.4.3.- Interpretación de resultados...	204

	<u>Pág.</u>
VIII.5. Acción de los microorganismos sobre los tensoactivos utilizados.....	206
Interpretación de resultados.....	222
IX.- CONCLUSIONES.....	229
X .- BIBLIOGRAFIA. ....	233

## I. INTRODUCCION

El empleo de los detergentes de síntesis se ha extendido enormemente después de la segunda guerra mundial. Estas sustancias comprenden una serie muy variada de productos químicos - que el hombre emplea fundamentalmente en operaciones de lavado y limpieza, en las que han sustituido a los jabones se puede decir que prácticamente en una sola década. Este hecho puede atribuirse principalmente a dos factores :

1) En las aguas duras el jabón forma sales insolubles de Calcio y Magnesio que no tienen propiedades detergentes y que además se depositan sobre los materiales que se están limpiando.

2) Los nuevos productos no sólo son más eficaces en este aspecto, sino también más baratos. Así, en poco tiempo, se generalizó el uso de los tensoactivos sintéticos primero en USA y luego en todo el mundo, a medida que el avance de la tecnología química lo hizo posible.

A pesar de las manifiestas ventajas de los nuevos productos, un nuevo problema se hizo gradualmente evidente : los detergentes sintéticos comenzaron a acumularse y a ser notables en los desagües, aguas tratadas y recipientes de aguas a causa de la misma propiedad que los hizo célebres ya que retienen sus propiedades espumantes aún en concentraciones pequeñísimas, circunstancia que plantea cuestiones técnicas importantes sobre todo en lo referente a la calidad de las aguas residuales, su toxicidad - sus tratamientos de depuración etc.

El problema básico es el poder disponer de detergentes de estructura tal que puedan ser detenidos en un tiempo suficientemente corto por los microorganismos presentes en los cursos de agua o en los tanques de depuración. La destrucción de los deter

gentes por los microorganismos podría ser definida como una "mineralización", es decir una transformación de las sustancias orgánicas que los componen en anhídrido carbónico y agua, y de los restantes componentes en las bases o ácidos inorgánicos correspondientes. Las formas microbianas capaces de llevar a cabo estos procesos están ampliamente representadas en la naturaleza, pero no todas las sustancias utilizadas como detergentes son susceptibles a la mineralización por los microorganismos, y así se puede establecer una distinción entre detergentes biodegradables y no biodegradables. Estos últimos resisten más ampliamente o incluso de una manera definitiva el ataque microbiano, con lo que resulta evidente que estas sustancias están destinadas a acumularse en las aguas y su acumulación en cantidad excesiva pueden ser causa de peligros considerables desde varios puntos de vista :

a) La presencia de detergentes en los rios en cantidades excesivas tiene como efecto a menudo la formación de espumas persistentes que impiden completamente la oxigenación del agua; de ello deriva una disminución o incluso desaparición de la fauna fluvial y de los microorganismos.

b) En las regiones con fuerte consumo de agua ( zonas superpobladas con mucha concentración industrial ) sucede que las aguas deben ser recicladas, necesidad que ha provocado más de una vez la acumulación de detergentes en las aguas potables.

c) Es muy probable que estas mismas sustancias no biodegradables pasen con el agua de riego a los terrenos de cultivo donde se irían acumulando progresivamente y ejerciendo su efecto sobre la compleja población de microorganismos que habita en

el suelo y que son los responsables de las transformaciones químicas que garantizan la riqueza en nutrientes de las plantas.

Vemos, pues, que, aunque los detergentes se acumulan principalmente en las aguas, pueden también influir en gran manera en la polución de los suelos.

## II.- PRODUCTOS TENSOACTIVOS Y DETERGENTES

## II.1.- PROPIEDADES FISICAS

La palabra "Tensoactivo" es una forma abreviada del término "Agentes activo de superficie" que indica la propiedad más sobresaliente de estos compuestos : Tienden a concentrarse en la superficie de una solución acuosa y a alterar sus propiedades superficiales. En cambio se aplica el nombre de "Detergente " a un producto o formulación destinada a la limpieza y lavado. Los modernos detergentes contienen normalmente entre un 10% a un 30% de tensoactivo ( a menudo denominado como "producto activo"), amplios porcentajes de sales de polifosfato y un número de otros ingredientes en pequeños porcentajes. La eficacia limpiadora de un producto convenientemente formulado es mucho mayor que la de igual cantidad de tensoactivo puro.

Es característica común y necesaria a todos los tensoactivos el poseer un radical fuertemente hidrófilo y un radical fuertemente lipófilo ligados en la misma molécula. Por la presencia del radical hidrófilo un tensoactivo es más o menos fácilmente soluble en agua, mientras que su polo hidrófobo es repelido por ella y como consecuencia, en la superficie de la solución (interfase aire-agua) las moléculas de tensoactivo se orientan con los grupos hidrófilos en la fase acuosa y los grupos hidrófobos en dirección opuesta. El resultado de esta película superficial orientada es la disminución de la tensión superficial del agua y una mayor tendencia a la formación de burbujas y espuma.

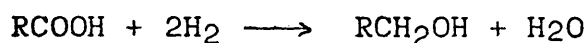


## II.2.- CONSTITUCION QUIMICA

### 1.- Radicales hidrófobos

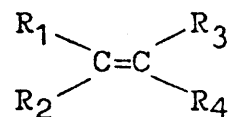
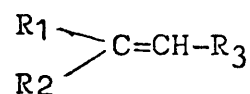
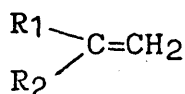
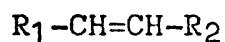
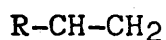
De acuerdo con la revisión hecha por Hutchinson (1967) el radical hidrófobo más usado en los tensoactivos es una cadena hidrocarbonada con una longitud entre 10 y 20 átomos de carbono, que puede pertenecer a los siguientes tipos :

A.- Acidos grasos : Pueden ser convertidos en jabones por neutralización con un Alkali :  $\text{RCOOH} + \text{NaOH} \longrightarrow \text{RCOONa} + \text{H}_2\text{O}$   
El grupo carboxílico de los ácidos grasos pueden enlazar a la cadena hidrocarbonada con un radical hidrófilo conveniente. Alternativamente, el grupo carboxílico puede ser primero reducido a grupo alcohólico para dar un alcohol graso que puede servir de intermediario en la síntesis de otros tipos de tensoactivos:

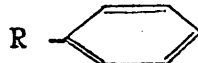


B.- PARAFINAS : Tienen la desventaja de ser químicamente poco reactivas por lo que su conversión directa en tensoactivos es bastante difícil. En su lugar es preferible utilizar otros intermediarios, normalmente olefinas, alquilbencenos o alcoholes que contienen grupos activos (doble enlace, anillo bencénico o grupo OH ) que son más fáciles de unir a radicales hidrófilos para formar tensoactivos.

C.- OLEFINAS : Han sido muy utilizadas en la fabricación de tensoactivos derivados del tetrapropileno ( TBS o tetrapropileno bencenosulfonatos )




D.- ALQUILBENCENOS

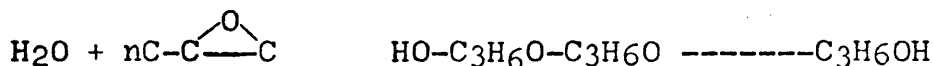


Utilizados como intermediarios en la producción de tensoactivos desde 1940, fueron empleados en la fabricación de los TBS que a causa de su escasa biodegradabilidad han caído en desuso siendo sustituidos por los Alquilbencenosulfonatos de cadena lineal (LAS) .

E.- ALCOHOLES : R-CH<sub>2</sub>OH. Se han empleado alcoholes lineales - desde los primeros días de la producción de tensoactivos; los - alcoholes ramificados han empezado a utilizarse más recientemente.

F.- ALQUILFENOLES : R  OH El grupo alquílico R puede estar en posición orto, meta o para respecto al grupo - OH.

G.- POLIOXIPROPILENOS : Son un ejemplo de radical hidrófobo - no derivado de hidrocarburos. Son polímeros del óxido de propi - leno :



## 2. Grupos hidrófilos

Los grupos hidrófilos de los tensioactivos actuales son de dos clases : Los que se ionizan en solución acuosa y los que no se ionizan.

Los más comunes son :

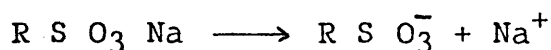
- Sulfonato -SO<sub>3</sub><sup>-</sup>
  - Sulfato -OSO<sub>3</sub><sup>-</sup>
  - Carboxilato -CO<sub>2</sub><sup>-</sup>
  - Amonio cuaternario -R<sub>3</sub>N<sup>+</sup>
  - Polioxietileno-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-----O-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-OH
  - Polipéptido - NH-CHR-CO-NH-CHR<sub>1</sub>-CO -----NH-CHR<sub>2</sub>-CO<sub>2</sub>H
- Los cuatro<sup>tes</sup> son iónicos y los restantes no iónicos.

### II.3.- TIPOS DE TENSOACTIVOS

Los radicales hidrófilos, los hidrófobos y las formas de unirlos pueden ser permutadas y combinadas para originar tensoactivos de variedad ilimitada, algunos de los cuales han sido extremadamente importantes por razones científicas y comerciales.

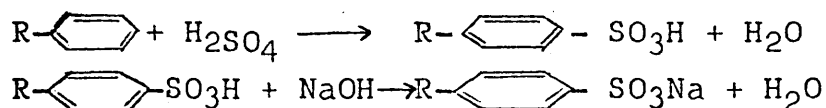
En esta clasificación citaremos los grupos más importantes. Una información más completa sobre este aspecto se puede obtener en los trabajos de Swisher.

1.- Aniónicos : en solución acuosa dan iones tensoactivos cargados negativamente, originando usualmente grupos sulfonato, sulfato o carboxilato



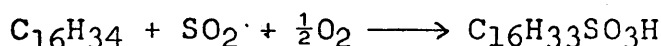
Comercialmente son muy importantes y representan la mayor parte de tensoactivos hoy en uso y se obtienen principalmente por sulfonación o sulfación de los radicales hidrófobos. Algunos de los compuestos más representativos de este grupo son :

a) Alquilbencenosulfonatos : Se obtienen por reacción de alquilbenceno con ácido sulfúrico o anhídrido sulfúrico para dar el ácido sulfónico que es entonces neutralizado para dar la sal deseada, frecuentemente sal de sodio :



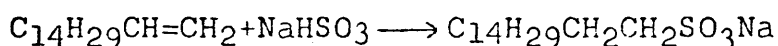
El grupo sulfonato enlaza con el anillo predominantemente en posición para. Son los tensoactivos más ampliamente utilizados por sus excelentes propiedades detergentes y costo bajo.

b) Alcanosulfonatos ( sulfonatos alifáticos o sulfonatos parafínicos ) : No pueden formarse por sulfonación directa - ya que las parafinas son relativamente inertes al ácido sulfúrico, pero su producción comercial es factible por sulfoxidación : La parafina se hace reaaccionar con anhídrido sulforoso y oxígeno para dar el ácido sulfónico que entonces es neutralizado con la base deseada :

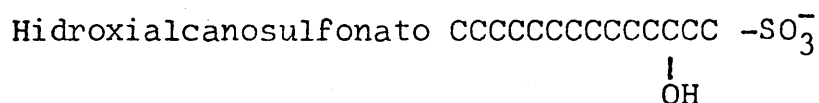
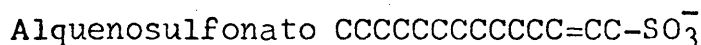


La reacción puede ocurrir en cualquiera de los hidrógenos a lo largo de la cadena parafínica originando una mezcla - de ácidos sulfónicos isómeros.

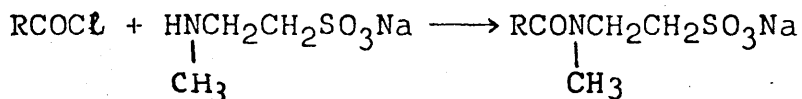
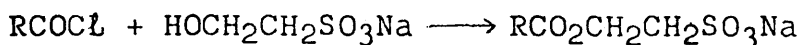
c) Alcanosulfonatos primarios : Han sido de considerable importancia en estudios científicos de los fenómenos de tensoactividad ya que se sintetizan fácilmente, por adición de un bisulfito a -olefinas lineales :



d) Sulfonatos de Olefinas : Están empezando a usarse - comercialmente por acción del anhídrido sulfúrico sobre -olefinas lineales con la subsiguiente neutralización. La reacción - es compleja y sigue varias trayectorias dando dos productos principales :

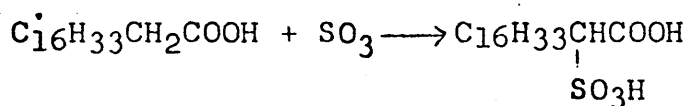


e) Sulfonatos de ésteres y amidas : Pueden producirse por reacción de un ácido graso con ácidos hidroxisulfónicos de - cadena corta o ácidos aminosulfónicos :



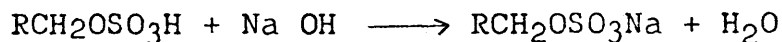
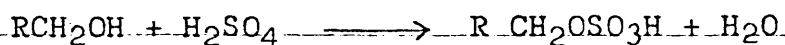
Estos productos se conocen con el nombre de Igepon A e Igepon T respectivamente.

f) Acidos grasos sulfonados : Pueden obtenerse por sulfonación directa con anhídrido sulfúrico. El grupo sulfónico se introduce en posición :



Los grupos carboxílico y sulfonato pueden ser neutralizados ambos, o el grupo carboxílico puede reaccionar con un alcohol para dar un ester.

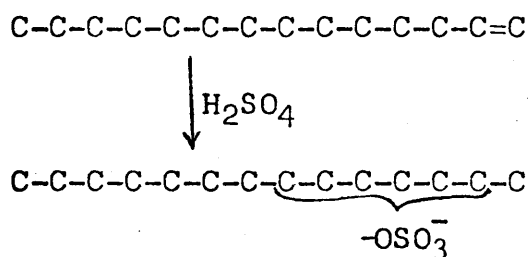
g) Alquilsulfatos primarios: Se forman por reacción de alcoholes primarios con 'acido sulf'urico y neutralización de la base deseada :



Estos productos han sido fabricados en gran volumen desde los primeros días de los detergentes sintéticos. Son estables en solución neutra o alcalina, pero en presencia de ácidos se hidrolizan fácilmente. Los radicales hidrófobos suelen ser lineales.

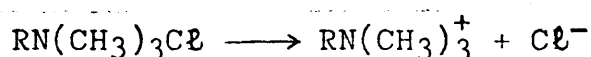
h) Alquilsulfatos secundarios: Normalmente no son producidos a partir de los correspondientes alcoholes ya que se forman más fácilmente por reacción directa de la correspondiente ole

fina con el ácido sulfúrico. El grupo ester sulfato no se introduce necesariamente solo en la posición del doble enlace, p.ej. con una olefina lineal se puede encontrar en todas las posiciones excepto en las primarias al final de la cadena



Algunos de estos compuestos han sido fabricados en Europa durante muchos años bajo el nombre de Tecpol, casi siempre en solución acuosa. Como los alquilsulfatos primarios se hidrolizan por ácidos y son sensibles al calor, descomponiéndose en olefina y bisulfato sódico.

2.- Catiónicos : En solución acuosa dan iones tensoactivos cargados positivamente, p.ej. derivados de Amonio Cuaternario :

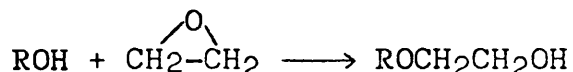


Son de interés en la industria de los detergentes principalmente por sus propiedades bacteriostáticas y germicidas. Su comportamiento como detergentes es pobre y representan solo una fracción muy pequeña de los tensoactivos en uso.

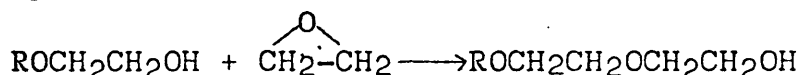
3.- No Iónicos : Contienen grupos hidrófilos que no se ionizan apreciablemente en solución acuosa. Algunos de los más importantes comercialmente contienen un radical polieter hidrófobo derivado del óxido de etileno (EO). Comprenden quizás 20-25% del volumen total de tensoactivos producidos.

El grupo polioxietileno puede ser introducido en algún

radical hidrófobo que contenga un átomo de hidrógeno activo, p.ej, un átomo de hidrógeno unido a uno de oxígeno como en un alcohol.- El óxido de etileno reacciona con el hidrógeno activo para formar un hidroxietter :



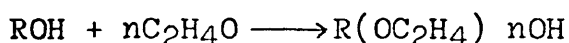
Este producto contiene sus propios átomos de hidrógeno activos que puedan también reaccionar con el óxido de etileno, dando otro producto con un hidrógeno activo y así sucesivamente :



Así puede construirse una cadena de poliglicol de la longitud deseada simplemente por adición continua de óxido de etileno en la reacción.

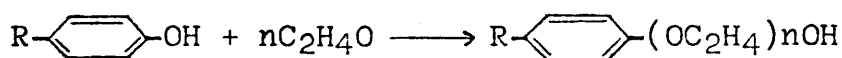
Los productos no iónicos que han sido usados en amplia escala comercial corresponden a cuatro tipos generales :

a) Alcohol etoxilatos: Son derivados de alcoholes alifáticos por reacción con óxido de etileno.



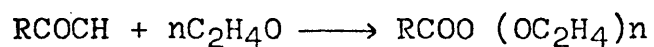
El producto de cadena ramificada preparado a partir del alcohol C<sub>13</sub> de tetrapropileno ha declinado en importancia por su resistencia a la biodegradación. Está siendo implantado por los alcoholes lineales derivados por polimerización Ziegler del etileno y por oxonación de olefinas lineales.

b) Alquilfenol etoxilatos : Se hacen de acuerdo con la ecuación :



Los derivados de alquilfenoles polipropilénicos han caído en desuso en la industria de los detergentes por razones de su biodegradabilidad.

c) Esteres de polioxi-etileno : Se forman de etoxilación de ácidos carboxílicos :



El ácido suele ser un ácido graso natural

d) Derivados polioxi-etileno-polioxi-propilénicos : Son polímeros mezclados con radicales hidrófobos derivados del óxido de propileno, que después se hacen reaccionar con óxido de etileno hasta alcanzar las propiedades deseadas. Ordinariamente tienen un peso molecular muy elevado, a menudo con mucho más de las usuales 8 - 15 moles de óxido de etileno características de los otros no iónicos.



### III. BIODEGRACION DE PRODUCTOS TENSOACTIVOS

### III.1.- MICROORGANISMOS QUE INTERVIENEN EN ESTOS PROCESOS

En la mayoría de los casos la mayor parte de la biodegradación es llevada a cabo por bacterias, aunque Wurtz-Arlet (1964) y Klein (1964) han comprobado la degradación de Alquilbenceno-sulfonato (ABS) por algas. Davis (1967) encontró que los Tetrapropilbencenosulfonatos (TBS), Alquilsulfatos lineales (LAS) y algunos no iónicos eran degradables todos por algas en cultivo puro con un alcance que variaba ampliamente de unas especies a otras.

Mc Kinney (1956) y Brown (1965) han estudiado los protozoos del lodo activo y Hawkes (1963) ha revisado y discutido estas cuestiones en detalle. Curds (1968) ha demostrado convincentemente una marcada mejora en la transparencia de los efluentes de lodos activos después de la introducción de protozoos ciliados en el sistema, mientras Calaway (1968) ha remarcado la importancia de los rotíferos.

Existen, en realidad, pocos problemas para obtener especies bacterianas apropiadas para la biodegradación de tensoactivos. Están presente en el suelo, aguas naturales, en el agua y en los residuos. Harkness (1966) ha revisado la literatura sobre las especies bacterianas encontradas en todos los niveles del tratamiento de aguas residuales y Baars (1965) ha discutido la distribución de poblaciones, su estructura y su bioquímica. Brevion (1966), trabajando con muestras de aguas residuales domésticas, identificó nueve géneros bacterianos predominantes e investigó los efectos de algunos nutrientes sobre la distribución de la población durante el crecimiento subsiguiente.

En su exámen de lodo activo de distintas fuentes, Mc. Kinney, (1953) aisló 72 bacterias representantes de 14 géneros. Van Gils (1964) investigó la bacteriología del lodo activo en detalle y Dias (1964, 1965) aisló unas 300 cepas bacteriana de

él, observando ciertas diferencias en la distribución de las cepas en el lodo activo comparada con las encontradas en las aguas residuales. Shaposhnikov (1968) describió el aislamiento de 132 cepas puras de bacterias y hongos a partir de lodo activo derivado del contenido de petróleo de algunos productos residuales.

El género *Pseudomonas* ocupa un lugar predominante en todas estas bacterias. Sus miembros han estado relacionados con la biodegradación de tensoactivos desde los primeros días, como cuando Williams (1949) observó el crecimiento bacteriano accidental en un champú e identificó a los organismos como especies de *Pseudomonas*; probó 12 cultivos puros distintos de bacterias y encontró que 7 podían crecer en champú, mientras que 5 no. Diez años después, Mc.Kinney (1959) dió a conocer el aislamiento de 34 cultivos puros capaces de vivir en Tetrapropilenbencenosulfonatos (TBS) : 15 de ellos pertenecían al género *Pseudomonas*, 10 a *Alcaligenes* y el resto estaban distribuidos entre otros 5 géneros. Como Mc.Kinney, Schönborn (1962) aisló 34 cepas por similares técnicas de enriquecimiento sobre Tetrapropilenbencenosulfon (TBS) y Alquilbencenosulfonato lineal (LAS) : Una de ellas fue un tipo de hongo, otra una bacteria grampositiva y el resto eran bacterias gramnegativas. Anderson (1964) estudió los valores del crecimiento de 10 cultivos aislados por vía de enriquecimiento en TBS; uno de ellos ( una especie de *Alcaligenes*) crecía también sobre un medio con 5000 p.p.m. de TBS como sobre caldo nutritivo, y los otros menos fácilmente.

Iliescu (1966) aisló 10 especies de *Pseudomonas*, y una de *Aerobacter*, *Alcaligenes*, *Achromobacter* y *Escherichia* a partir de un medio de cultivo con LAS o ABS como única fuente de Carbono, después de inocular con lodo activo aclimatado. Skinner (1959) -

aisló una bacteria del suelo capaz de vivir sobre el alquilsulfato secundario Teepol, alquilsulfatos primarios y alcanolamidas grasas : Una Pseudomonas sin identificar la especie. Hsu (1965) obtuvo 6 cepas de Pseudomonas a partir de agua de alcantarillado, todas capaces de degradar alquilsulfatos.

Robeck (1963) examinó las poblaciones de microorganismos en varios lugares de un suelo que había sido utilizado durante dos años en experimentos de degradación de TBS. Las especies de Pseudomonas encontradas suponían un 5% de los microorganismos encontrados hacia la superficie y un 0'5% de los encontrados en profundidad.

### III.2.- INTERACCIONES TENSOACTIVOS-BACTERIAS.

Dos hechos son particularmente importantes en el estudio de la biodegradación de tensoactivos : a) la alta concentración del tensoactivo puede inhibir o dañar a las bacterias de forma que resulten incapaces de conseguir una degradación que puede llevarse a cabo fácilmente en concentraciones más bajas. b) el tensoactivo puede desaparecer de la solución por adsorción p.ej. añadiendo - ~~Alquilbencenosulfonato (ABS) en 20-30 p.p.m. a un sistema bacte-~~ riano concentrado como un lodo activo conteniendo 2000-3000 p.p.m. de mezcla de líquido y sólido en suspensión, el análisis inmediato de la fase líquida puede mostrar sólo 2-3 p.p.m. de ABS. Ello no significa necesariamente que haya ocurrido el 90% de la degradación en los primeros minutos y, así, en un examen cuidadoso, el ABS desaparecido puede ser encontrado asociado con el lodo adsorbido sobre él. Si el ABS es biodegradable, p.ej. LAS, la fracción adsorbida desaparece pronto, junto con la de la fase líquida. Si es poco degradable, p. ej. TBS, la porción sin degradar persiste tanto en el lodo como en la solución.

Muchos de los primeros trabajos sobre las interacciones tensoactivos-bacterias fueron dirigidos hacia el desarrollo de sistemas antisépticos y desinfectantes. Algunos de los tensoactivos son muy poderosos a este respecto bajo condiciones apropiadas, aunque estos mismos productos bajo otras condiciones pueden ser fácilmente atacados por las bacterias como ocurre con algunos jabones.

Los efectos de tensoactivos sobre bacterias han sido revisados por Glassman (1948), Putnam (1948), Fischer (1958), James (1965), Dychdala (1968) y Swisher (19 ) entre otros. A pH neutro, los tensoactivos catiónicos son generalmente los más tóxicos y su eficacia aumenta a pH más elevado, disminuyendo en pH más bajo. En contraste, los aniónicos son menos efectivos en solución neutra, pero aumentan su actividad a pH inferior. Los no iónicos han sido considerados generalmente como inactivos frente a las bacterias.

Las bacterias de distintas especies pueden mostrar sensibilidad ampliamente diferente a un tensoactivo dado. Se puede decir que, en general, las especies grampositivas son más susceptibles a los aniónicos que las gramnegativas, mientras que los catiónicos actúan contra ambos tipos. El incremento de la longitud de la cadena de un aniónico parece hacerlo más efectivo.

Con el incremento del uso de tensoactivos por la industria de los detergentes y su resultante aparición en las aguas de alcantarillado, surgía una consideración algo diferente: Más que un máximo de acción antibacteriana, era preferible un mínimo de tales efectos para que exista la menor interferencia posible con las bacterias implicadas en los procesos de tratamiento de aguas residuales. Generalmente, los efectos inhibidores de los tensoactivos aniónicos se hacen evidentes a valores de 100-1000

p.p.m. El umbral varía ampliamente según las especies bacterianas, tipo de tensoactivo, presencia de nutrientes u otros materiales, concentración bacteriana y grado de aclimatación. La mayor resistencia de bacterias gramnegativas que grampositivas a la acción de tensoactivos aniónicos ha sido repetidamente observada por Fischer (1958), Hartmann (1963, 1966) Oba (1965), Lambin (1966) entre otros y así, las concentraciones del orden de 10 a 20 p.p.m. pueden causar notables efectos en grampositivos como *Bacillus*, *Sarcina* y *Stafilococcus*, mientras que varios miles de p.p.m. pueden tener poco efecto sobre gramnegativos como *Aerobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas sp.*, *Serratia marcescens*.

Los mecanismos por los que los tensoactivos inhiben o paran las actividades bacterianas no han sido bien explorados todavía. Indudablemente la interacción con las enzimas y proteínas bacterianas es un factor importante. Tales interacciones ocurren "in vitro", y si estos componentes esenciales celulares son alterados de tal manera dentro de la célula misma o en la pared celular, no debe sorprendernos el que se alteren los procesos vitales. Algunas investigaciones sobre especies de *Proteus* nos dan un ejemplo : Estos organismos son extremadamente móviles, e incluso en medio sólido no permanecen en colonias fijas, por lo que a veces es necesario inhibir esta propiedad para proceder a los métodos de aislamiento. Ya en 1942, Lominsky encontró que los jabones y tensoactivos poseían ese efecto inhibitor haciendo desaparecer los flagelos característicos sin afectar a sus propiedades de crecimiento, y Kopp (1965) mostró el mismo efecto sobre la movilidad de *Proteus mirabilis* utilizando alquilsulfatos lineales primarios, aunque no estableció si este fue el resultado del ataque directo sobre los flagelos o bien de la inhibición de la formación de flagelos. El sodio -

decil sulfato (SDS) entre 100-1000 p.p.m. puede causar la ruptura o desintegración parcial de los flagelos de otras especies bacterianas y a 1000-2500 p.p.m. puede solubilizar las membranas citoplásmicas aisladas de *Bacillus subtilis* (Bishop, 1967). SDS y otros tensoactivos han sido usados en muchos otros estudios de estructuras celulares y componentes celulares : Shafa y Salton (1960) observaron la destrucción de la pared celular de *Salmonella gallinarum* y otras especies gramnegativas por acción del SDS sugiriendo que se produciría una interacción entre el tensoactivo y la parte lipídica y lipoproteica de la pared celular. Schnaitman (1971) estudió el efecto del tensoactivo no iónico Triton X-100 sobre la membrana citoplásmica de *Escherichia coli* observando una solubilización de la parte proteica de la membrana, y Woldringh y Wouter van Ierssen (1972) han observado la disolución de la membrana y alteraciones de la ultraestructura de *Escherichia coli* después del tratamiento con Sodio dodecilsulfato. Díaz Miguel (1972) ha estudiado el efecto de varios tensoactivos aniónicos y no iónicos sobre la ultraestructura y producción de pigmentos de *Chlamydomonas oblonga*, observando que a las 48 horas del tratamiento con 100 ppm de tensoactivo se producía la desaparición de las clorofilas y marcado descenso de carotenos, así como la alteración y a veces destrucción de las lamelas del cloroplasto y lisis de orgánoides citoplasmáticos.

### III.3.- PRINCIPALES MECANISMOS DE ATAQUE MICROBIANO A TENSOACTIVOS

#### III.3.1.- INFLUENCIA DE LA ESTRUCTURA QUIMICA EN LA BIODEGRACION

Hammerton (1956) sugirió por primera vez que el factor más importante en la biodegradación de tensoactivos era que el radical hidrófobo fuera lineal, mientras que la naturaleza química y la forma de unión del radical hidrófilo eran sólo escasamente significativos: los tensoactivos lineales son facilmen

te biodegradables, los ampliamente ramificados no lo son .

.. Las investigaciones posteriores empleando una amplia variedad de modelos de tensoactivos sintetizados con estructuras conocidas han servido para comprobar esta generalización. Aunque el efecto de una simple ramificación metílica en una molécula - que de otra forma sería lineal es escasamente notable, el incremento de la resistencia al incrementar la ramificación se observa generalmente, y la resistencia se hace excepcionalmente grande cuando hay una ramificación cuaternaria al final de la cadena en la molécula.

Tanto el radical hidrófobo como el hidrófilo están implicados en una generalización enunciada en primer lugar por Huddleston y Swisher (1963). Deriva de los estudios de los efectos de la longitud de la cadena y de la posición fenil a lo largo de la misma sobre la biodegradación de Alquilbencenosulfonatos de cadena lineal (LAS) : Cuanto mayor sea la distancia entre el grupo sulfonato y el final de la cadena alquílica, más rápida será la biodegradación. Los isómeros con el grupo fenilo unido cerca del extremo de la cadena desaparecen algo más rápidamente ~~que aquellos en que la unión es más central.~~ Parece que más que la simple posición de enlace del anillo a la cadena, es el grupo sulfonato mismo el que está implicado, como viene indicado por la menor degradación de los 1-fenildodecano y tetradecano - orto-sulfonatos comparados con los correspondientes isómeros - "para" (Huyser, 1960; Swisher 1963).

Existe también un efecto de inhibición de los tensoactivos sobre su propia degradación cuando se sobrepasa una cierta concentración límite. Ciattoni (1968) examinó varios LAS homólogos, de C 10 a C 15 observando que cada uno de ellos tenía una concentración límite por encima de la cual su degradación no -



ocurría, al menos en 50 días, aunque las bacterias conservaban su capacidad para degradar otros sustratos normales como glucosa o extracto de carne. Por debajo de esa concentración, la degradación de LAS tenía lugar, con periodos de inducción más pequeños cuanto menor era la concentración inicial. Ciattoni atribuyó la inhibición a la interacción de LAS con centros enzimáticos específicos bacterianos, de otra manera capaces de atacar la cadena alquílica. Estos resultados concuerdan bastante bien con los de Mann (1968) sobre variedades de LAS comercial de mayor peso molecular.

En cuanto a la biodegradación de los Etoxilatos no iónicos, influyen dos factores principalmente : 1) el número de unidades de óxido de etileno en el grupo hidrófilo y 2) la estructura del grupo hidrófobo. Como han demostrado muchos investigadores, la biodegradación es acrecentada por disminución del número de unidades de óxido de etileno (Bogan 1954, Sawyer 1956, Oldham 1956 entre otros ) y por incremento de la linealidad del radical hidrófobo, hecho este último de influencia más pronunciada de forma que la biodegradación de los alcohol etoxilatos lineales es usualmente rápida y completa (Oldham - 1958, Huddleston 1964, Bunch 1967 Patterson 1967, Borstlat 1967 ),

En el caso de los alquilfenol etoxilatos influye la posición del grupo fenilo en el mismo sentido que hemos visto para el LAS : Parece que la biodegradación comienza fácilmente cuando el fenol está en posición terminal o casi terminal, mientras que se hace más difícil cuando la unión es más central ( Smithson 1966).

### III.3.2 VÍAS METABOLICAS PRINCIPALES

Los mecanismos químicos usados por las bacterias para la biodegradación de tensoactivos, son aquellos que ellas ya

poseen para la utilización de los alimentos normales, mediante reacciones catalizadas enzimáticamente. La mera presencia de un compuesto orgánico extraño puede, a menudo, desencadenar - el desarrollo de enzimas modificados capaces de aceptar el nuevo compuesto como sustrato conduciendolo a su utilización como alimento. Así, lo que es un compuesto químico extraño en una - situación, puede ser un alimento muy normal para alguna otra - comunidad bacteriana en ambiente distinto. Los tensoactivos , hasta el nivel en que son biodegradables, sirven tambien como nutrientes, y en su degradación es conducida por estas mismas reacciones.

La reacción neta sobre todas en las bacterias es la oxidación. Discutiremos brevemente tres de los mecanismos - oxidativos generales que parecen ser particularmente pertinentes en la utilización bacteriana de tensoactivos :

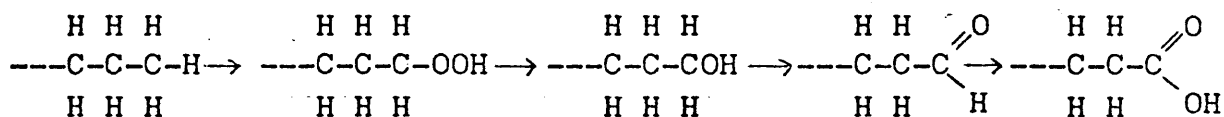
- A.- Oxidación terminal, primer escalón en la degra+ción del radical hidrófobo.
- B.- Proceso de Beta-oxidación mediante el cual es - degradada la porción alifática del radical hi - drófobo.
- C.- Oxidación de aromáticos que es aplicable cuando el radical hidrófobo contiene un anillo bencénico.

A).- Oxidación terminal: El ataque sobre LAS y probablemente sobre muchos tensoactivos, comienza con la oxidación - del grupo metilo terminal a grupo carboxílico. A falta de indicios de lo contrario, podemos suponer que los mecanismos usados son adaptados a partir de los usados en el ataque inicial sobre hidrocarburos alifáticos insustituídos.

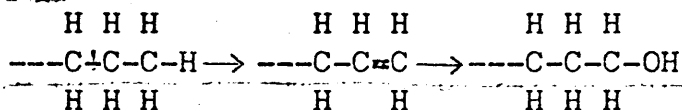
El ataque inicial sobre n-parafinas C 6 y mayores es predominantemente terminal en un extremo de la cadena, - produciendo los correspondientes alcohol y ácido graso como primeros productos identificables.

La evidencia del mecanismo exacto y los pasos intermedios es complicada, probablemente a causa de que pueden usarse varias vías diferentes dependiendo de 1) los microorganismos que intervienen 2) la longitud de la cadena, 3) otras particularidades estructurales del hidrocarburo y 4) las condiciones bajo las que se opera.

Hay claros indicios de que una de las vías comprende la adición de oxígeno molecular al hidrocarburo para dar un hidropéroxido primario que es convertido luego en alcohol primario, aldehído y ácido carboxílico



Una posible segunda vía comprende la deshidrogenación inicial con formación de un doble enlace al final de la cadena, y la posterior adición de agua con formación del alcohol primario :



Después de la formación del ácido graso, los próximos escalones son usualmente los de la beta-oxidación, pero - también se han observado otras reacciones en casos particulares, p.ej. la formación de ésteres grasos y la oxidación di - terminal en que la oxidación terminal se repite para los dos - extremos de la cadena, derivando ácidos dicarboxílicos suscep

tibles de la subsiguiente beta-oxidación sobre ambos extremos.

El Ciclohexano que no tiene extremo libre de la cadena, sufre también el ataque bacteriano, siendo nuevamente el paso inicial la formación de un hidroperóxido que se convierte en el correspondiente alcohol secundario. Los alcoholes secundarios, o sus productos de oxidación han sido encontrados también en la oxidación bacteriana de hidrocarburos lineales más cortos. En cambio las levaduras se ha observado que también dan alcoholes secundarios a partir de hidrocarburos de mayor longitud p.ej. Klug (1967) encontró que *Candida lipolytica* formaba tanto 1-alcanoles primarios como 2-alcanoles secundarios casi en proporción 2:1 a partir de alcanos de  $C_{14}$  a  $C_{18}$ . De forma parecida, Jones (1968) publicó una extensa formación de derivados primarios y secundarios (2-hidroxi) en compuestos de variada longitud de cadena por una especie de la levadura *Torulopsis*, mostrando que este organismo opera introduciendo directamente oxígeno en o cerca del final de la cadena.

También tiene lugar el ataque central sobre la cadena hidrocarbonada. Abbott (1968) lo estudió suministrando *n*-hexadecano a células de *Nocardia salmonicolor* en crecimiento sobre glucosa, y Klein (1969) estudió la oxidación interna de *n*-hexadecano a cetonas por vía de alcoholes secundarios con especies de *Arthrobacter*.

También tiene lugar el ataque microbiano sobre hidrocarburos ramificados, dependiendo aparentemente el grado de dificultad de los detalles estructurales de la molécula. McKenna (1966) propuso que los hidrocarburos ramificados tales como el pristano pueden seguir las mismas vías metabólicas que los lineales : oxidación terminal seguida de beta-oxidación. Stokke

(1969) ha comprobado que la última puede ser realizada siempre que no ocurra una alfa-oxidación cuando la ramificación está en un carbono beta.

### B. Beta-oxidación

En las células vivas los ácidos grasos son degradados por el proceso de beta-oxidación. Los ácidos grasos son componente universal de todos los organismos celulares vivientes y el mecanismo de la beta-oxidación es utilizado en todos los tipos de animales, vegetales o microbianos.

La literatura sobre este proceso es muy extensa : La discusión de los principios básicos fué dada en detalle por Stumpf ( 1960) y en sumario por Anderson (1967) y Overath (1969). La inducción y represión de los enzimas necesarios en *Escheri - chia coli* ha sido estudiada por Weeks (1969).

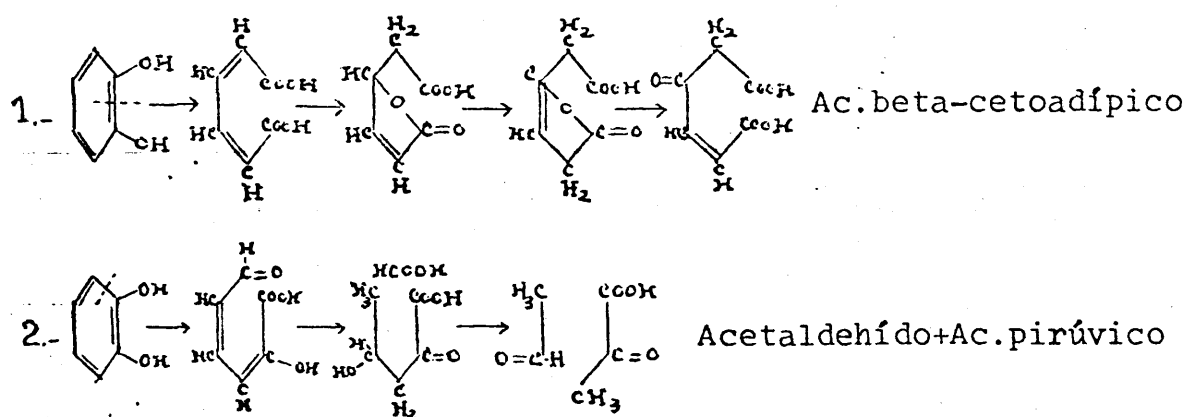
Dada la amplia difusión del proceso de beta-oxidación no creemos necesario extendernos aquí en más detalles sobre este mecanismo.

### C. Oxidación de Aromáticos.

El anillo bencénico aparece en todos los sistemas vivos. Mc.Kinney (1956) exploró algunas de las vías usadas por los microorganismos del lodo activo para su oxidación. Knox (1961), Evans (1963), Dagley (1965), Van der Linden (1965) y Gibson (1968) han revisado los distintos mecanismos de degradación de anillos - mientras Fuhs (1961), Foster (1962) y Mc. Kenna (1965) han tratado más particularmente del ataque sobre benceno mismo y otros hidrocarburos aromáticos por bacterias y otros organismos.

Dos de las rutas comunes para la biodegradación del anillo bencénico son las siguientes :

99  
99  
99



En ambos casos se ha tomado el catecol como punto de partida ya que es un intermediario común del mismo benceno y de muchos derivados bencénicos ( ácido benzoico, fenol, ácido salicílico y otros ). A partir de él el anillo puede romperse entre o adyacente a los dos grupos hidroxílicos.

En la vía 1, el anillo se rompe entre los dos hidroxilos formándose un ácido dicarboxílico que es convertido en ácido beta-cetoadípico. Este último puede ser destruido por beta-oxidación para dar acetato y succinato que son ambos componentes celulares ordinarios.

En la vía 2 la ruptura inicial del anillo ocurre adyacente a los dos hidroxilos a ácido fórmico, acetaldehído y ácido pirúvico, todos los cuales son metabolitos celulares comunes.

#### IV.- LOS CICLOS BIOLOGICOS DEL NITROGENO Y DEL CARBONO

#### IV.1. El Ciclo del Nitrógeno

El aprovechamiento biológico del Nitrógeno es de considerable importancia económica por ser uno de los principales nutrientes de las plantas. Este elemento sufre un gran número de transformaciones en las que están implicadas tanto los compuestos orgánicos como los inorgánicos. Las transformaciones - ocurren simultáneamente pero en escalones o reacciones individuales con frecuencia con oposición de metas. Estas reacciones pueden ser examinadas en distintos pasos de un ciclo en el que el Nitrógeno es movido alternativamente de un lado a otro por la actividad microbiana pasando por distintos grados de oxidación, desde +5 ( como en los  $\text{NO}_3^-$  ) hasta -3 ( como en el  $\text{NH}_4^-$  ). En todos estos grados se ha comprobado su utilización por diversos microorganismos.

Dommergues y Mangenot (1970), clasifican estas transformaciones en dos grupos de procesos :

##### I.- Procesos que regulan las ganancias y pérdidas de nitrógeno en el suelo.

##### A.- Procesos inductores del enriquecimiento :

- a.- De naturaleza microbiana :
  - Fijación del Nitrógeno simbiótica y libre
- b.- De naturaleza no microbiana :
  - Aporte de las aguas meteóricas
  - Irrigación
  - Absorción del  $\text{NH}_3$  atmosférico

##### B.- Procesos inductores del empobrecimiento :

- a.- De naturaleza microbiana :
  - Desnitrificación
- b.- De naturaleza no microbiana :
  - Volatilización del  $\text{NH}_3$
  - Reacciones químicas



- Lixiviación, erosión y fuego

II.- Procesos reguladores de la tensión en nitrógeno asimilable por las plantas.

A.- Procesos inductores al enriquecimiento del suelo en nitrógeno mineral.

a.- De naturaleza microbiana :

- Amonificación y Nitrificación

b.- De naturaleza no microbiana :

- Liberación del nitrógeno amoniacal fijado por las arcillas.

- Liberación del nitrógeno mineral por desecación del suelo.

B.- Procesos inductores de la disminución en la tensión en nitrógeno mineral.

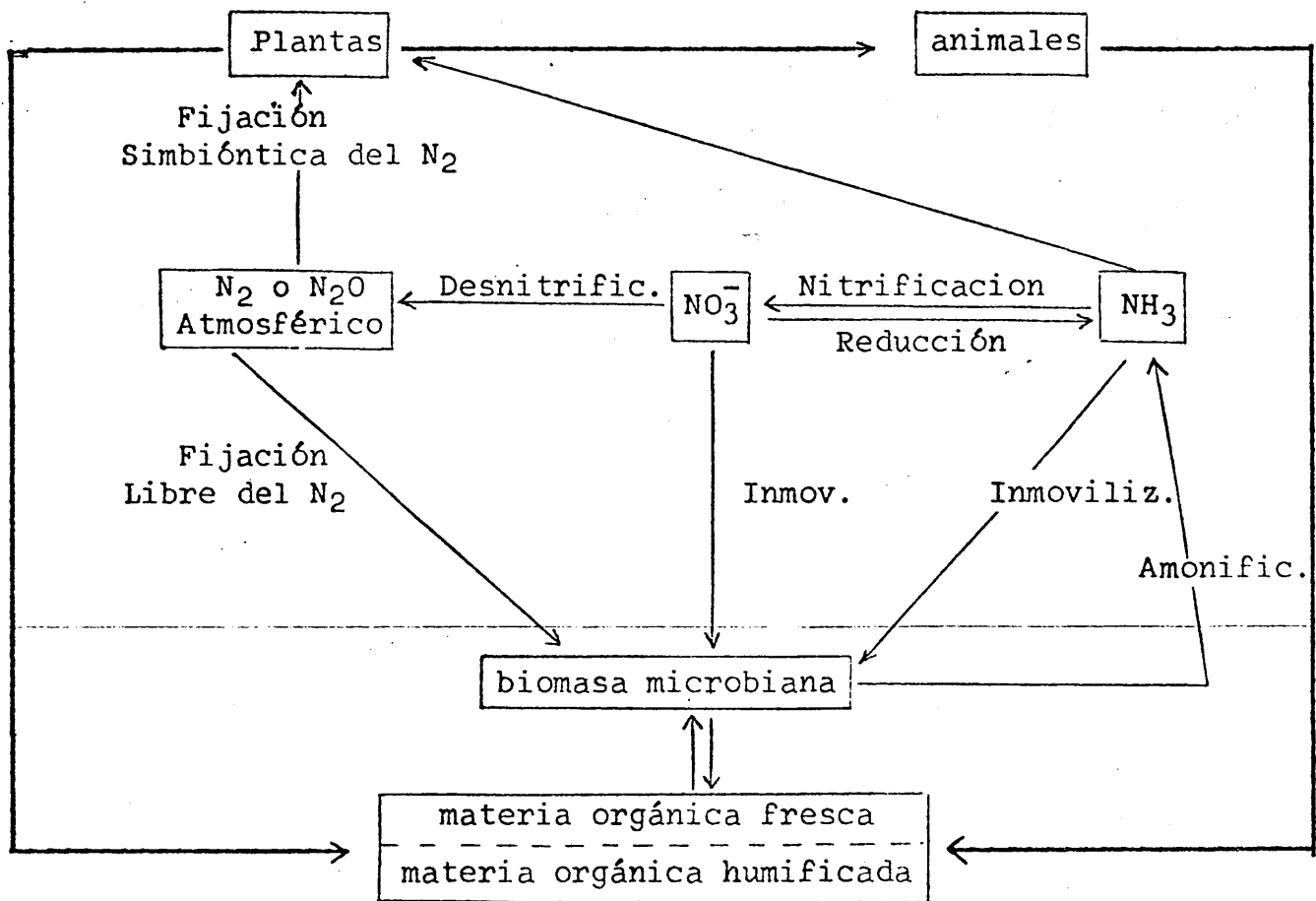
a.- De naturaleza microbiana :

- Inmovilización o reorganización

b.- De naturaleza no microbiana

- Reversión no biológica del nitrógeno ~~mineral.~~

Estos autores resumen las transformaciones en el siguiente esquema :



#### IV.1.1. Mineralización del nitrógeno orgánico.

Incluye los procesos de amonificación y nitrificación. El nitrógeno orgánico presente en las proteínas y ácidos nucleicos de las plantas lo utilizan los animales transformándolo en otros compuestos y por la muerte todo el nitrógeno orgánico es transformado en amonio por los microorganismos amonificantes. El ión amonio es la forma preferida del nitrógeno por los microorganismos al incorporarse en este estado a sus compuestos orgánicos. También, mediante la fijación del nitrógeno atmosférico es introducido este elemento en el suelo bajo forma proteica o amoniacal.

El ión amonio puede sufrir posteriores oxidaciones - por los microorganismos nitrificantes y pasar a nitritos o nitratos.

La amonificación aparece como primer eslabón en el ciclo del nitrógeno. Este proceso es llevado a cabo por considerable número de bacterias, hongos y actinomicetos existentes en el suelo. Influyen favoreciéndolo el pH neutro o alcalino y las altas temperaturas, y retardándolo el pH ácido, las bajas temperaturas y la anaerobiosis.

El final de las reacciones implicadas en la mineralización se produce en el momento en que se forma amoniaco que es la forma más reducida de nitrógeno inorgánico y sirve como punto de partida para la nitrificación. Esta última comprende una serie de reacciones químicas llevadas a cabo por microorganismos que conducen a la producción de nitritos y a su posterior oxidación a nitratos.

La nitrificación autótrofa es llevada a cabo por microorganismos muy especializados que obtienen toda la energía que necesitan de la oxidación del amoniaco. Son bacterias quimiosintetizantes, existentes en el suelo, y todas ellas pertenecen -

tes a la familia Nitrobacteriáceas, orden Pseudomonadales, siendo los gérmenes oxidantes del amonio a nitritos Nitrosomonas, Nitrosococcus, Nitrosospira, Nitrosocystis y Nitrosoglea de los que sólo Nitrosomonas se encuentra frecuentemente.

La oxidación de nitritos a nitratos se lleva a cabo por los géneros Nitrobacter y Nitrocystis, dependiendo fundamentalmente de la presencia de Nitrobacter en el suelo.

Existe también una nitrificación heterótrofa llevada a cabo por microorganismos que, a diferencia de los autótrofos, no pueden utilizar la oxidación de los compuestos nitrogenados como única fuente de energía para sus síntesis celulares. Entre ellos, hay numerosas especies de los géneros Pseudomonas, Streptomyces y Nocardia, Corynebacterium y Achromobacter, y de los hongos Aspergillus, Penicillium y Cephalosporium.

Una vez formados, los nitratos pueden seguir en el suelo varios días : Ser absorbidos por las plantas superiores, perderse por lixiviación, perderse por desnitrificación y ser inmovilizados por la flora microbiana.

#### IV.1.2. Inmovilización

~~Una parte del nitrógeno mineral existente en el suelo~~ es tomado por los microorganismos que lo utilizan para sintetizar sus compuestos, inmovilizándolo. Al morir devuelven una parte del nitrógeno de sus compuestos y este sufrirá de nuevo una mineralización. La inmovilización es por tanto un proceso antagónico a la mineralización.

#### IV.1.3. Desnitrificación.

Se entiende por desnitrificación, en sentido general, la reducción microbiana de los nitratos. El ion nitrato, principal y a veces exclusiva fuente de nitrógeno para las plantas, puede seguir tres vías distintas de degradación microbiana :

- a.- Reducción completa a amoníaco con aparición transitoria de nitritos en el medio. Dentro del ciclo del nitrógeno, este proceso no sería una desnitrificación, por ser el ion amonio el compuesto nitrogenado preferido por los microorganismos.
- b.- Reducción incompleta con acumulación de nitritos en el medio, De esta forma actúan los hongos y actinomicetos que se sirven de los nitratos como fuente de nitrógeno pero siempre en presencia de una fuente de energía.
- c.- Reducción a nitritos con reducciones sucesivas hasta la formación de productos gaseosos, que por volatilización pasan a la atmósfera.- Estos microorganismos utilizan los nitratos como fuente de oxígeno.

Los dos primeros mecanismos no constituyen una verdadera desnitrificación, ya que durante el proceso no se produce ninguna pérdida de nitrógeno para el suelo, sino una transformación del nitrógeno de una forma inorgánica (nitrato) a otra orgánica (proteína) o inorgánica más reducida (nitrito o amonio).

Los microorganismos que utilizan los nitratos como fuente de oxígeno en su forma especial de respiración son : Thiobacillus desnitrificans, muchas especies de Pseudomonas y ocasionalmente Chromobacterium, Mycoplasma, Serratia, Vibrio, Bacillus y Micrococcus.

La bioquímica del proceso ha sido estudiada por Campell y Lees (1967).

La desnitrificación requiere : Presencia de nitrógeno en forma de nitratos o nitritos, ausencia de oxígeno, aporte de sustancias donantes de electrones, temperatura elevada y pH neutro.

#### IV.1.4. Fijación del nitrógeno por microorganismos del suelo libres.-

La capacidad de los nitroorganismos para fijar nitrógeno gaseoso ha sido estudiada hace muchos años a causa de su importancia potencial en la fertilidad del suelo. Es llevada a cabo por bacterias heterótrofas de los géneros Azotobacter, Clostridium y Pseudomonas, bacterias fotosintetizantes como Rhodospirillum y por algas azules, algunos hongos y otras bacterias - como Methanobacillus.

Los dos géneros principales son Azotobacter y Clostridium. El primero de ellos está constituido por bacterias aerobias que oxidan los carbohidatos para obtener energía y fijan el nitrógeno cuando crecen en el suelo o en medios deficientes en compuestos nitrogenados. El género Clostridium está formado por bacterias anaerobias estrictas que fijan el nitrógeno más lentamente que los Azotobacter.

#### IV.1.5. Fijación simbiótica del nitrógeno.-

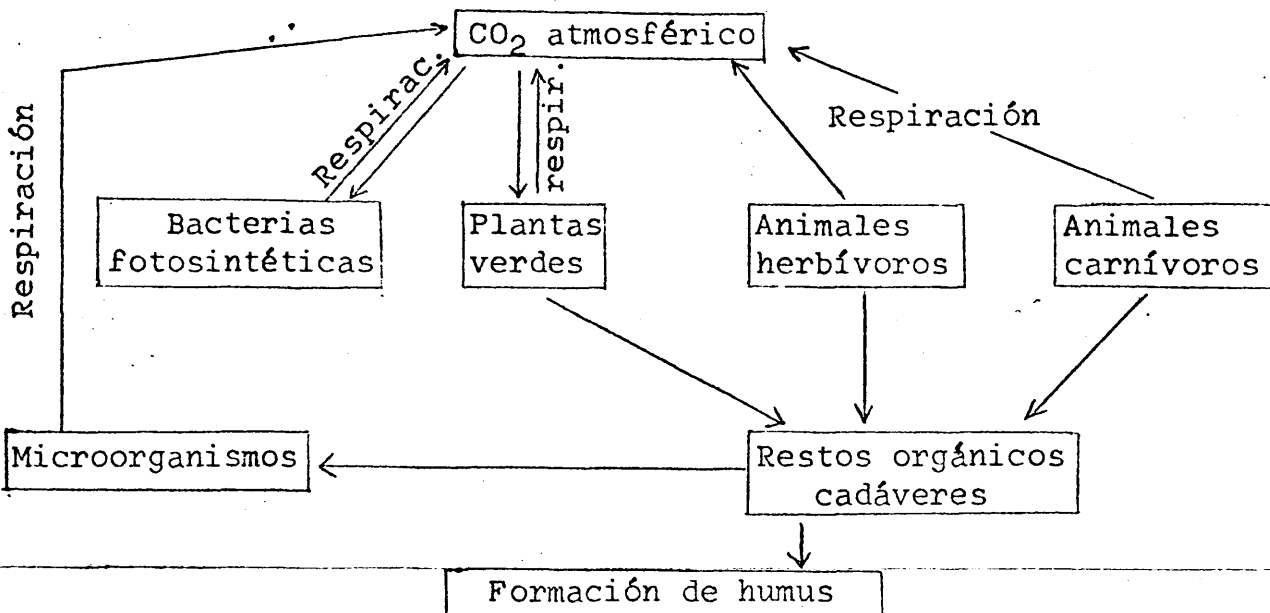
Es llevada a cabo fundamentalmente por las bacterias del género Rhizobium que forman nudosidades radicales en su simbiosis con las plantas leguminosas. Existen, además, otras familias de Angiospermas que forman nudosidades radiculares - producidas por células bacteriformes o actinomicetos capaces - de fijar nitrógeno ( Becking y Bond, 1967).

La infección de la planta por las bacterias comprende varias fases : Preinfección de la raíz, infección y producción de nódulos, madurez del nódulo y degeneración del nódulo.

La fijación del nitrógeno tiene lugar en los nódulos y la cantidad de nitrógeno fijado es proporcional al volumen - del tejido infectado.

#### IV.2. El ciclo del Carbono.-

El Carbono entra a formar parte fundamental de los constituyentes de la materia viva por lo que su ciclo tiene - una extraordinaria importancia en la Naturaleza y las distintas etapas que lo componen han sido muy estudiadas, aunque no totalmente descifradas, pudiendo resumirse en el siguiente esquema :



De acuerdo con Alexander (1961) y Dommergues y Mangenot (1971) podríamos reducir estas etapas a cuatro fundamentales :

- 1.- En la primera de ellas este elemento pasa a formar parte de compuestos orgánicos (hidratos de carbono, proteínas etc.) gracias a la fotosíntesis llevada a cabo por las plantas o por bacterias. La fuente de energía procede de la luz que es captada por sus pigmentos y gracias a ella fijan el CO<sub>2</sub> atmosférico para edificar sus

propios compuestos orgánicos, pasando el carbono de esta manera a formar parte de sustancias orgánicas complejas. Por supuesto las reservas de  $\text{CO}_2$  atmosférico se agotarían sin la existencia de un proceso de mineralización que equilibrase a lo largo del ciclo la cantidad de  $\text{CO}_2$  perdido en esta primera etapa.

- 2.- La segunda etapa está constituida por los consumidores. Existen unos consumidores primarios, los animales herbívoros, que utilizan los vegetales como sustratos alimenticios y otros secundarios que se alimentan de los herbívoros. En realidad, durante esta segunda etapa se produce solo una transformación de los compuestos orgánicos en otros similares y con ello el carbono seguirá siendo, en su mayor parte, constituyente de moléculas complejas, si bien una parte de él revertirá a la atmósfera en forma de  $\text{CO}_2$  por la respiración y otra fracción quedará en el suelo formando residuos orgánicos que, eliminados por los animales, estarán en disposición de ser subsiguientemente mineralizados.

- 3.- Hay una tercera etapa muy importante en que los vegetales devuelven al suelo una parte de su propio organismo : hojas, ramas, tallos, frutos y toda la planta si son anuales o mueren. Además los animales con sus excrementos y cadáveres aumentan también el contenido en materia orgánica del suelo. Esta materia orgánica es entonces transformada a través de unas cadenas tróficas que se van sucediendo y que están



reguladas por microorganismos heterótrofos que van descomponiendo parcialmente la materia orgánica, de manera que los productos formados en el primer ataque sirven como sustrato alimenticio a otros microorganismos que elaboran con ellos compuestos utilizables por unos terceros y así sucesivamente. Ciertas sustancias orgánicas son descompuestas muy rápidamente y por un amplio número de microorganismos, mientras que otras son más resistentes al ataque (celulosa, pectina, lignina) y sólo algunos microorganismos son capaces de hacerlo.

- 4.- Hay finalmente algunos componentes de los restos vegetales o de los productos resultantes de su descomposición por microorganismos, que son fijados por el propio suelo combinándose con su fracción arcillosa y formando nuevos y estables complejos conocidos como ácidos húmicos.

Dada la naturaleza de este trabajo, la etapa de este ciclo que más nos interesaba considerar, era la controlada por microorganismos en la descomposición de restos orgánicos y cadáveres de animales y plantas, ya que esta se lleva a cabo en el suelo y los microorganismos responsables pueden resultar afectados de alguna manera en su actividad por la acumulación de productos tensoactivos. Como citamos anteriormente, algunos de estos compuestos orgánicos son fácilmente atacables por un sinnúmero de microorganismos y entre ellos podríamos citar el almidón, mientras que otros son más resistentes a la descomposición como ocurre con la celulosa. Indudablemente estos dos compuestos, almidón y celulosa, se acumulan en gran cantidad en el suelo. El primero procede fundamentalmente de los hidratos de carbono animales y vegetales y la segunda es aportada sólo por las plantas,

pero en cantidad tan elevada que su presencia en el suelo es permanente y hace imprescindible su degradación.

El almidón es un polisacárido formado por una mezcla en proporciones variables de amilosa y amilopectina. Su degradación implica una hidrólisis catalizada por enzimas que rompen los enlaces glucosídicos dando dextrinas y maltosa. Son muchos los microorganismos que producen amilasas : bacterias grampositivas y gramnegativas, aerobias y anaerobias, hongos filamentosos y actinomicetos, aunque varía su forma de ataque a la molécula. Muchos microorganismos no utilizan la molécula más que después de haber sido parcialmente fragmentada, mientras otros como *Clostridium* la atacan de una manera completa. Se ha comprobado que el almidón es degradado más o menos rápidamente según su origen : el de arroz es atacado por muchos microorganismos, mientras que el procedente de patatas y maíz es más resistente.

En cuanto a la celulosa es el más importante componente de la pared celular de los vegetales. Su ataque por microorganismos celulolíticos es una de las etapas mejor estudiadas del ciclo del Carbono, por los problemas que ha planteado en la industria textil, fábricas de papel etc. Es además capítulo importantísimo en la microbiología del suelo, ya que masas enormes de celulosa son incorporadas cada año al suelo por la vegetación.

La celulosa es un poliholósido formado por largas cadenas de glucopiranosas unidas por enlaces beta 1 - 4.

Organismos celulolíticos se encuentran entre las bacterias, mohos, Protozoos, pero no entre algas y levaduras. No obstante en cada uno de estos grupos sólo un número muy restringido de ellos son realmente celulolíticos. De un modo general podemos decir que el ataque de los mohos es más rápido que el de las bacterias.



Dado que el uso de los detergentes de síntesis se ha extendido considerablemente durante los últimos años y que estas sustancias no son siempre degradadas tan rápidamente como sería de desear y por tanto se acumulan en mayor o menor cantidad en las aguas y en el suelo, hemos considerado de interés la aportación de nuevos datos al estudio de las interacciones que se establecen entre estos productos y los microorganismos presentes en el suelo, observándolas bajo una doble vertiente :

- 1.- Influencia de los detergentes sobre los microorganismos, dentro de la cual hemos hecho mayor hincapié en la influencia sobre algunos procesos microbianos de los ciclos del nitrógeno y del carbono ya que hemos encontrado una laguna de información a este respecto en la bibliografía consultada y es evidente que una amplia fracción de la degradación es llevada a cabo en el suelo, siendo tal acción una parte esencial de los ciclos de carbono, nitrógeno y otros elementos. Además, el suelo, como entidad biológica, se debe al equilibrio entre el medio ambiente y la coexistencia de los seres vivos, cuyos procesos metabólicos son la base de su riqueza en nutrientes; la alteración de estos procesos por cualquier factor físico o químico puede romper el equilibrio, desencadenándose una serie de reacciones que pueden conducir en último término a la destrucción del suelo en un determinado período de tiempo.
- 2.- Influencia de los microorganismos sobre los detergentes, ya que al ser estos productos moléculas orgánicas pueden servir de sustrato a una porción más o menos grande de la microflora.

Como productos a ensayar para este trabajo, hemos utilizado varios tensoactivos aniónicos y no iónicos, por ser los más usados en la industria y por ello tambien los que - pueden acumularse en mayor cantidad en el suelo o en las aguas. No hemos incluido ningún compuesto del grupo de los catiónicos por ser muy escaso su volumen de fabricación, estando destinados principalmente a su uso como desinfectantes y germicidas . Tanto los aniónicos como los no iónicos ensayados lo han sido en forma de productos activos puros facilitados por los diversos laboratorios en que son sintetizados y donde los utilizan como base para la fabricación de detergentes.

## VI.- MATERIAL Y METODOS

## VI.1.- Productos tensoactivos.

### VI.1.1.- Aniónicos :

SODIO DODECIL SULFATO. Alquilsulfato primario, polvo blanco, soluble en agua, da positiva la reacción con azul de Metileno.

Fórmula Química  $C_{12}H_{25}-O-SO_3Na$ , con cadena alquílica lineal unida a un anillo bencénico :



FENOPON T 77. Alquilsulfonato, N - metil oleil taurida, fórmula química  $R-CO-N(CH_3)-CH_2-CH_2-SO_3Na$

Polvo blanco, soluble en agua, produce espuma abundante, parcialmente soluble en alcohol por los sulfatos inorgánicos, reacción con Azul de Metileno positiva y negativa con Azul de bromofenol.

DOBANE JNQ. Alquilbenceno sulfonato de cadena lineal fabricado por Shell Research Limited como base para detergentes.

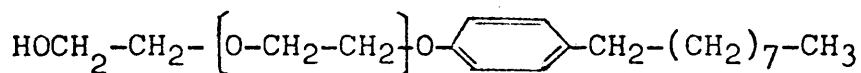
Fórmula química  $\begin{array}{c} R_1 \\ | \\ H-C- \text{C}_6\text{H}_4 - SO_3Na \\ | \\ R_2 \end{array}$  estando la longitud -

total de la cadena alquílica,  $R_1+R_2$ , comprendida entre  $C_{12}$  y  $C_{15}$ . La sustitución del núcleo bencénico nunca ocurre en posición 1-fenil.

DOBANE PT : Alquilbenceno sulfonato, fabricado por los mismos laboratorios que el anterior, y de estructura muy parecida, pero en este caso  $R_1$  y  $R_2$  están ampliamente ramificados, y la longitud total  $R_1+R_2$  es de cerca de  $C_{12}$ . Es un derivado del tetrámero del propileno.

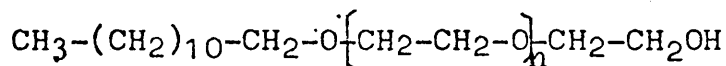
### VI.1.2. No iónicos :

LISSAPOL SNXP. Condensado el nonilfenol ( de cadena nonil esencialmente lineal ) con unas 9'5 mol de óxido de etileno



Es un líquido viscoso, sin color o escasamente coloreado soluble en agua a 20°C y algo menos en algunos disolventes de hidrocarburos aromáticos. Es fabricado por I.C.I. Ltd.

LISSAPOL DS 4429. Condensado del dodecil alcohol con 9'5 mol aproximadamente de óxido de etileno.



Producto semisólido, sin color o de color crema, soluble a 20° C en agua y en disolventes de hidrocarburos. Fabricado por I.C.I. Ltd.

## VI.2. El lodo.

Las muestras de lodo utilizado en este trabajo han sido recogidas del río Manzanares a la altura del Km.2 aproximadamente de la carretera de El Pardo. Este punto fué escogido por existir allí una salida de alcantarillado y hemos considerado que los microorganismos se hallan así aclimatados en un cierto grado a la presencia de los productos tensoactivos, que, resultantes del consumo en la ciudad, se vierten a las aguas residuales. Por otra parte hemos preferido, la utilización de lodo virgen y no de lodo activo procedente de plantas de tratamiento de aguas ya que estimamos que de esta forma nos acercamos más a las condiciones naturales en que deben ocurrir las interacciones entre tensoactivos y microorganismos.

La recogida de muestras se hizo durante el mes de Junio utilizando material esterilizado y se conservaron después en frigorífico.



### VI. 3. Las estirpes bacterianas.

Fueron aisladas de las muestras de lodo haciendo una serie de diluciones en medio salino estéril (9 gr, de ClNa en 1000 cc. de agua destilada ). De cada dilución se hicieron - siembras en placa con medio de agar común que se cultivaron en estufa a 28° C. Las colonias seleccionadas fueron sembradas en tubo de agar inclinado comprobando su pureza al microscopio, y conservándose por duplicado en cámara fría. Todas ellas fueron sometidas a una serie de pruebas morfológicas, fisiológicas y bioquímicas para su clasificación.

#### A.- Pruebas morfológicas :

- Observación en vivo, realizada a las 24 h. de cul-  
tivo, en la que se anotó la forma, tamaño y movi-  
lidad.
- Tinción de Gram realizada a las 48 h. en las que  
se observa la forma y su posible variación con -  
la edad, la coloración Grampositiva o Gramnegati-  
va y el tamaño.
- Tinción de esporas

---

#### B.- Pruebas fisiológicas :

- En caldo común para observar el crecimiento, tur-  
bidez, formación de película, sedimento y produc-  
ción de pigmentos.
- En agar nutritivo para observar la forma de la co-  
lonia, superficie, contorno, bordes, elevación, -  
brillo y pigmentación.
- En agar-Eosina-Azul de Metileno para los colifor -  
mes.

#### C.- Pruebas bioquímicas :

- Producción de indol en agua peptonada.
- Utilización del ion citrato en medio de Koser.
- Reducción de nitratos.
- Fermentación de azúcares.
- Hidrólisis de la gelatina.
- Hidrólisis del almidón.
- Cultivo en "Litmus milk".
- Producción de sulfuro de plomo.
- Oxidasa.
- Catalasa.

.De acuerdo con los resultados de estas pruebas y -  
siguiendo el manual Bergey's las estirpes aisladas fueron cla  
sificadas de la forma siguiente :

#### VI.3.1. Estirpes Grampositivas.

##### Fam. Bacillaceae

Células en forma de bastón capaces de formar endosporas cilíndricas, elípticas o esféricas y centrales , subterminales o terminales. Normalmente Grampositivas y móviles.

Dentro de esta familia se han aislado cinco estirpes Grampositivas :

Estirpe A3	-----	Bacillus pumilus
Estirpe M 101	-----	Bacillus s.p.
Estirpe M 41	-----	Bacillus pantothenicus
Estirpe M 24	-----	Bacillus pulvifaciens
Estirpe C 2	-----	Bacillus licheniformis

##### Fam. Brevibacteriaceae :

Células sin endosporas, en forma de bastón, movilidad variable, pueden atacar carbohidratos y son Grampositivas.

Estirpe M 21 ----- Brevibacterium erythrogenes

Fam. Micrococcaceae :

Células esféricas, aisladas, raramente móviles, no -  
producen gas de carbohidratos, muchas producen pigmen-  
tos no solubles en agua.

Estirpe M 26 ----- Micrococcus ureae

VI.3.2. Estirpes Gramnegativas .

Fam. Bacillaceae

Estirpe A2 ----- Bacillus laterosporus

Estirpe M4 ----- Bacillus pasteurii

Estirpe M7S ----- Bacillus sphaericus

Estirpe M12S ----- Bacillus s.p.

Estirpe A4 ----- Bacillus brevis

Fam. Achromobacteraceae

Pequeñas células, movilidad variable, no fermentan  
lactosa.

Estirpe C1 ----- Alcaligenes fecalis

Estirpe 61 ----- Achromobacter parvulus

---

Fam. Pseudomonadaceae

Células alargadas, rectas, móviles, suelen formar pig-  
mentos solubles que difunden al medio, muy aerobias.

Estirpe M22 ----- Pseudomonas putida

Fam. Enterobacteriaceae

Células rectas, movilidad variable, atacan la glucosa,  
producen nitritos a partir de los nitratos, suelen -  
vivir en el intestino del hombre y animales.

Estirpe M23 ----- Escherichia intermedia

Estirpe M63 ----- Escherichia freundii

#### VI.4. Los aparatos

- Estufa de cultivo en agitación "Psyncrotherm", New Brunswick Scientific Co.
- Incubadora Orbital Gallenkamps
- Estufa de desecación Elektro Helios
- Equipo de filtración Millipore con membranas de 0'45 y 0'8  $\mu$  de tipo AA
- Espectrocolorímetro de la casa V.E.B. Karl Zeiss Jena
- Balanza monoplato Sartorius, modelo 2442
- pH - metro de la casa L. Pusch de Munic
- Aparato de destilación "Rotavapor" Afora con cazo de aceite termostatzado de 50 a 200° C.
- Espectrógrafo de infrarrojos modelo 457 Perkin-Elmer
- Agitador de tubos Mixo-Tub, Gri-Cel.

#### VI.5. Los medios de cultivo.

##### 1.- Agua peptonada

Peptona bacteriológica .....	10gr.
Cloruro sódico.....	5gr.
Agua destilada .....	1000cc.

##### 2.- Solución salina de Winogradsky

Fosfato bipotásico.....	5gr.
Fosfato magnésico .....	2'5gr.
Cloruro sódico.....	2'5gr.
Sulfato férrico.....	0'05gr.
Sulfato de manganeso .....	0'05gr.
Agua de grifo.....	1000cc.

##### 3.- Solución de Oligoelementos.

Molibdato potásico.....	0'05gr.
Borato sódico.....	0'05gr.
Nitrato de cobalto.....	0'05gr.
Sulfato de Cadmio .....	0'05gr.

Sulfato de cobre .....	0'05gr
Sulfato de Cinc .....	005 gr
Sulfato de manganeso.....	0'05gr
Percloruro de hierro.....	una gota
Agua destilada .....	1000cc

4.- Extracto de tierra.

Tierra de jardín de pH neutro .....	1kg
Agua de grifo.....	1 L.

La mezcla se somete al autoclave durante una hora a 130° gr.C. Cuando la temperatura desciende a 100°C se deja escapar el vapor. Se filtra y reparte en - tubos y se vuelve a esterilizar.

5.- Medio para gérmenes amonificantes

Asparagina .....	0'2gr
Sol.sa. Winogr.....	50 c.c.
Sol. oligoelementos .....	1 c.c.
Agua destilada .....	950 c.c.

6.- Medio para la investigación de gérmenes nitrosos

Sulfato amónico.....	0'5gr
Carbonato Cálcico .....	1gr
Sol.sal. winogr.....	50 c.c.
Agua destilada .....	950 .cc.

7.- Medio para la investigación de gérmenes nítricos

Nitrito sódico .....	1gr
Carbonato cálcico .....	1gr
Sol.sal. Winogr.....	50 c.c.
Agua destilada.....	950 c.c.

8.- Medio para gérmenes desnitrificantes

Nitrato potásico .....	2gr.
Carbonato cálcico.....	5gr.

Glucosa .....	10gr
Sol.sal. Winogr.....	50 c.c.
Sol. oligoelementos.....	1 c.c.
Agua destilada .....	950 c.c.

9.- Medio para fijadores aerobios.

Manitol .....	10gr
Carbonato cálcico.....	0'5gr
Sol.salina Winogr.....	50 c.c.
Extracto de tierra.....	10 c.c.
Sol.oligoelementos.....	1 c.c.
Agua destilada.....	c.s.p.1000" c.c.

10.- Medio para amilolisis.

Nitrato amónico.....	1 gr.
Almidón de arroz.....	1,5gr.
Extracto de tierra.....	10 c.c.
Sol. sal. Winogr.....	50 c.c.
Sol. oligoelementos.....	1 c.c.
Agua destilada .....	c.s.p 1000 c.c.

11.- Medio para celulolisis aerobia.

Nitrato amónico.....	1 gr
Extracto de tierra .....	20 gr.
Sol.sal. Winogr.....	50 c.c.
Sol. oligoelementos.....	1 c.c.
Agua destilada .....	c.s.p.1000 c.c.

12.- Medio para el cultivo en agitación.

Cloruro Amónico.....	3 gr.
Fosfato bipotásico.....	1 gr.
Sulfato Magnésico crist.....	0'25 gr.
Cloruro Potásico.....	0'25 gr.
Sulfato Ferroso crist.....	0'002 gr.
Extracto de Levadura.....	0'3 gr.
Agua destilada .....	1 Litro

#### VI.6. Los reactivos.

1.- Reactivo de Nessler (Investigación del amoníaco)

Solución A: Ioduro mercúrico..... 50gr  
Ioduro potásico ..... 36'5gr  
Agua dest.....c.s.p 1000 c.c.

2.- Reactivo de Griess-Ilosvay (Investigación de nitrit

Solución A: Naftilamina ..... 0'05gr  
Ac. acético al 30%... 100 c.c.  
Solución B: Ac. sulfanílico ..... 0'8gr  
Ac. acético al 30%... 250 c.c.

3.- Difenilamina (Investigación de nitratos y nitritos)

Difenilamina ..... 1 gr.  
Ac. sulfúrico ..... 100 c.c.  
Agua destilada..... 20 c.c.

#### VI.7. Influencia de los tensoactivos sobre la microflora total de las muestras de lodo.

Se ha determinado de la siguiente forma :

Se han inoculado 10 gr. de la muestra de lodo en un -  
matraz con 100 c.c. de agua fisiológica estéril sometiendo esta  
suspensión a una agitación de 30 min. A continuación se han ino-  
culado 0'1 c.c. de dicha suspensión en tubos con 10 c.c. de Agua  
peptonada preparados son las siguientes dosis de cada tensoactivo  
10 ppm 50 ppm 100 ppm 500 ppm 1000 ppm 5000 ppm 10.000 ppm  
tomando tres tubos para cada concentración, además de tres tu -  
bos control que sólo contenían el medio de cultivo.

El estudio se ha hecho por turbidimetría, midiendo la  
densidad óptica a 500  $m\mu$ . Los resultados son sólo relativos, y -  
aunque los datos han sido comprobados por repetición de la prueba  
no tienen más que un valor comparativo que es interesante, sin -  
embargo, ya que nos indica cuales de los tensoactivos utilizados  
son más bacteriostáticos y cuales son mejor tolerados.

VI.8. Tolerancia de las estirpes bacterianas aisladas frente a distintas dosis de tensoactivos :

Se han preparado cultivos puros de cada germen con 24 horas de incubación a 28° C. A partir de ellos se ha inoculado 0.1 c.c. en tubos con 10 c.c. de Agua peptonada. Se han utilizado los tensoactivos Fenopon T 77 y Sodio Dodecil Sulfato en las dosis de 10 - 50 - 100 - 500 - 1000 - 5000 - 10.000 p.p.m., tomando tres tubos de cada concentración y tres tubos de control.

El crecimiento se ha determinado por turbidimetría, midiendo la densidad óptica a 500 mμ. Lo mismo que en el caso anterior, los resultados sólo tienen un valor comparativo que nos indica que tipo de bacterias resisten mejor la presencia de los tensoactivos.

VI.9. Influencia sobre algunos de los procesos del Ciclo del Nitrógeno :

VI.9.1.- Procesos de Mineralización :

1) Amonificación.- Se basa en la investigación del amoníaco con el reactivo de Nessler en un medio líquido salino que contiene asparagina.

Una vez preparado el medio para Amonificantes (5) se ha repartido en tubos con 10 cc cada uno y después de esterilizado se ha sembrado 1 cc de suspensión-dilución de lodo por tubo, tomando tres tubos por dilución de la 10<sup>-1</sup> a la 10<sup>-10</sup>. En los casos en que el nº de amonificantes es muy elevado se ha tomado hasta la dilución 10<sup>-15</sup>. Las dosis de tensoactivos utilizadas han sido de 100, 1000 y 10.000 p.p.m. La incubación se ha realizado a 28° C durante 15 días y las lecturas se han hecho los días 1-23-4-5-7-9-12 y 15 echando dos gotas del reactivo en tubos que contenían respectivamente 1 cc. de cada dilución extraído estérilmente con pipeta Pasteur de los tubos de cultivo.



Después del 15º día se ha determinado el nº de gérmenes amonificantes por gramo de lodo según las tablas de Mc.Crady. Se ha estimado la actividad biológica trazando las curvas de amonificación en función de las diluciones medias ( nº de tubos con reacción positiva / nº de tubos tomados para cada dilución) y del tiempo.

2) Nitrificación.- (O. Coppier y H. de Barjac) Se basa en la investigación de los g'ermes nitrosos y de los nítricos en medios líquidos selectivos. En el primer caso, gérmenes nitrosos, se ha leído, después de la incubación, la dilución límite que contenía nitritos con la difenilamina sulfúrica. En el segundo caso, gérmenes nítricos, la dilución límite que contenía nitratos con la difenilamina sulfúrica, después de eliminar los nitritos con urea.

Los medios ( 6 y 7) se han repartido en tubos de hemolisis a razón de 1cc. por tubo y se han sembrado 0'5 cc. de suspensión-dilución de lodo por tubo, tomando 5 tubos / dilución de la  $10^{-1}$  a la  $10^{-6}$ . Se han incubado a 28°C durante 30 días y las lecturas se han hecho los días 10, 20 y 30. Se ha determinado el número de gérmenes nitrificantes / gr. de lodo con relación a las tablas de Mc. Crady.

#### VI.9.2. Procesos de Desnitrificación (H. de Barjac.)

Se basa en la investigación de la desaparición de los nitratos contenidos y de los nitritos formados en un medio líquido sembrado con una suspensión-dilución de la muestra de lodo. Para la desaparición de los nitratos se han hecho las lecturas con la difenilamina sulfúrica después de haber eliminado los nitritos con urea. La desaparición de los nitritos se ha investigado con el reactivo Griess-Ilosvay. El medio (8) se ha repartido en tubos a razón de 10cc. por tubo y se ha sembrado 1cc. de suspensión-dilución por tubo tomando 3 tubos por dilución de la  $10^{-1}$  a la  $10^{-10}$  o la  $10^{-15}$ . Se ha incubado a 28°C.- durante 15 días y las lecturas se han hecho los días 1-2-3-4-5

7-9-12 y 15 sacando estérilmente unas gotas de cultivo a un tubo de hemólisis. Se han establecido las curvas de actividad biológica y se ha calculado el número de gérmenes desnitrificantes/gr de lodo con arreglo a las tablas de Mc. Crady.

#### VI.9.3. Fijación aerobia del nitrógeno molecular. ( T.Tchan)

Se basa en la apreciación de un cultivo de Azotobacter por aparición de un velo desarrollado sobre un medio líquido - que no contiene Nitrógeno combinado, después de la siembra con suspensiones-diluciones de lodo.

Una vez preparado el medio ( 9) se ha repartido en - tubos a razón de 5cc. en cada tubo y después de esterilizado, se ha sembrado 1cc. de suspensión-dilución de lodo por tubo, - tomando 5 tubos por dilución de la  $10^{-1}$  a la  $10^{-8}$  en los controles y de  $10^{-1}$  a  $10^{-6}$  en los tubos con tensoactivo, siendo las - dosis utilizadas de 100, 1000 y 10.000 ppm. Los cultivos se - han incubado a 28°C durante 15 días y las lecturas se han hecho los días 7 y 15. Se ha determinado el nº de gérmenes fijadores por gr. de lodo de acuerdo con las tablas de Mc. Crady.

#### VI.10.- Influencia sobre algunos aspectos del ciclo del Carbono

VI.10.1.- Amilolisis.- Se investiga la desaparición del almidón con el lugol en un medio líquido sembrado con suspensiones -diluciones de lodo. El medio (10) se ha repartido - en tubos a razón de 10cc. por tubo y se ha sembrado 1 cc. de suspensión-dilución por tubo tomando tres tubos por dilución de la  $10^{-1}$  a la  $10^{-10}$ . Se han utilizado las dosis de 100, 1000 y 10.000 p.p.m. de tensoactivos. Se ha incubado a 28°C. durante quince días y las lecturas se han hecho 1-2-3-4-5-7-9-12 y 15 sacando estérilmente unas gotas de cultivo de cada tubo a un tubo de hemólisis. Se han establecido las curvas de actividad amilolítica y se ha determinado el nº de gérmenes amilolíticos / gr. de lodo con arreglo a las tablas de Mc.Crady.

#### VI.10.2. Celulolisis aerobia.-

Se determina la presencia de gérmenes celulolíticos por aparición de estos sobre un papel de filtro dispuesto en medio líquido. El medio (11) se ha repartido en tubos a razón de 8cc. de largo por tubo poniendo en cada uno una tira de - papel de filtro de 7 cc. de largo por 1 cm. de ancho y se ha sembrado 1 cc de suspensión-dilución por tubo tomando tres tu bos por dilución de la  $10^{-1}$  a la  $10^{-6}$ . Se ha incubado a 28°C durante 15 días al cabo de los cuales se ha observado la posi- ble aparición de gérmenes celulolíticos aerobios por gramo de lodo con arreglo a las tablas de Mc. Crady.

#### VIII.- Cultivos en agitación y obtención de muestras para espectroscopía de infrarrojos.

El proceso de cultivo seguido para la obtención de - muestras para análisis con el espectrógrafo de infrarrojos, - está basado en el método para la determinación de la biodegra- dabilidad de los productos y preparaciones de tensoactivos del grupo de los alquilaril sulfonatos utilizado en el Laboratorio Central de Aduanas y publicado en el B.O. del E. el 3 de marzo de 1969 :

Se han preparado una serie de matraces erlenmeyer de 2 l. conteniendo 1l. de medio basal (12) a los que se añade una cantidad de tensoactivo suficiente para obtener una concentra- ción de 30 mg/l y 10 ml de medio de cultivo (lodo). Se han co- locado estos matraces en una máquina agitadora a 125 carreras - por minuto, manteniendo la temperatura a 25°C durante 72 horas, transcurridas las cuales se preparó otra serie de matraces de - 2l. con 1l de medio basal en los que se añadió 10ml. de solución tomada del anterior erlenmeyer de ensayo, correspondiente a - cada uno, y 30 mg/l del tensoactivo correspondiente. Esta se -

gunda serie de matraces se mantuvo bajo las mismas condiciones de agitación y temperatura durante otras 72 horas con lo que finalizó el período de adaptación. Al término de este período se preparó un número igual de matraces con la misma cantidad de medio basal (1 l ) añadiendo las mismas cantidades y en igual forma que para el segundo período de 72 horas. Estos erlenmeyer se mantuvieron en las mismas condiciones de cultivo citadas durante ocho días.

Para seguir el curso de la biodegradación se tomaron muestras de todos los matraces en los siguientes momentos :

- 1 hora después de estarse agitando los cultivos correspondientes a las primeras 72 horas del período de adaptación.
- 1 hora después de estarse agitando los cultivos correspondientes a las segundas 72 horas del período de adaptación.
- 1 hora después de estarse agitando los cultivos correspondientes al ensayo de ocho días.
- El día 1 del ensayo de ocho días, a las 24 horas de tomar la muestra anterior.
- El día 7.
- El día 8.

El volumen de muestra tomado ha sido de 100 cc. en todos los casos.

Una vez extraídas las muestras se procedió a filtrarlas por membranas Millipore tipo AA de  $0.8\mu$  primero y  $0.45\mu$  después. Luego de filtrar, se ha extraído el tensoactivo contenido en la muestra con cloroformo grado reactivo de la casa Carlo Erba en embudos de decantación, repitiendo varias veces la extracción. El resultado de estas extracciones se destiló en un aparato rotavapor conectado a una bomba de vacío para la evaporación del cloroformo hasta que el residuo de tensoactivo

quedaba totalmente seco. Estas muestras fueron analizadas en el espectroscopio de infrarrojos.

#### VI.12.- Espectroscopía infrarroja:

Para realizar los espectros se utiliza, en el caso de las muestras líquidas, una célula semipermanente de Cl Na de 0.1 mm de espesor, de la casa Beckman. Para su limpieza se emplea tetracloruro de carbono, evaporándose después con una bomba de vacío.

En el caso de muestras sólidas, se realizan en comprimidos de Br K en proporción de 1 mg aproximadamente de muestra por 300 mg. de Br K, y en el haz de compensación se pone otra muestra de Br K solo. (Br K especial para espectroscopía de infrarrojos Urasol de la casa Merck).

La zona espectral barrida ha sido para muestra líquidas de 4000 a  $625\text{ cm}^{-1}$ , límite impuesto por la propia célula de Cl Na. Para las muestras sólidas la zona de barrido ha sido de 4000 a  $250\text{ cm}^{-1}$ .

## VII. ESQUEMA DEL TRABAJO PROPUESTO

Con objeto de proporcionar una idea de conjunto del trabajo realizado, antes de pasar a la exposición de resultados, se da un esquema de las distintas etapas realizadas :

1º.- Acción de los tensoactivos sobre las bacterias:

A.- Influencia de la concentración de los distintos tensoactivos utilizados sobre la microflora total de las muestras de lodo.

I.- Influencia sobre el crecimiento.

II.- Influencia sobre las propiedades morfológicas y de tinción.

B.- Influencia de la concentración de Fenopon T 77 y Sodio Dodecil Sulfato sobre bacterias-aisladas de las muestras de lodo.

I.- Influencia sobre el crecimiento.

II.- Influencia sobre propiedades morfológicas y de tinción.

C.- Influencia de la concentración de los distintos tensoactivos sobre algunos procesos del Ciclo del Nitrógeno.

I .- Amonificación

II.- Nitrificación

III- Desnitrificación

IV.- Fijación libre aerobia del nitrógeno atmosférico.

D.- Influencia de la concentración de los distintos tensoactivos sobre algunos aspectos del Ciclo del Carbono.

I.- Amilolisis

II- Celulolisis aerobia

29.- Acción de la microflora del lodo sobre los  
tensoactivos :

- Análisis por espectroscopía de infrarrojos -  
de muestras tomadas en diferentes períodos de  
cultivos en agitación.



## VIII.- EXPOSICION E INTERPRETACION DE RESULTADOS

VIII.1.- Influencia de la concentración de tensoac-  
tivos sobre la microflora total de las -  
muestras de lodo.

Se ha determinado midiendo la densidad óptica de -  
cultivos con distintas dosis de cada producto, según se descri-  
be en el Capítulo de Material y Métodos en el apartado 7. Los  
resultados se expresan en las tablas I, II, III, IV, V, y VI y  
en las figuras 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7.

A las 24 y 48 horas de incubación se hicieron prepa-  
raciones microscópicas de cada uno de los cultivos para su ob-  
servación, en vivo, tinción de Gram y producción de esporas. -  
Los cultivos control presentaban gran densidad de bacterias con  
formas cocáceas (estreptococos y micrococos preferentemente) y  
formas bacilares en su mayoría móviles, con más abundancia de -  
bacilos gramnegativos y esporulación notable.

En los cultivos con tensoactivos, en la dosis inferior  
no cambió esencialmente el aspecto de las bacterias, salvo en -  
lo que se refiere a que no aparecían formas móviles, y que la -  
densidad de células era menor. En general, en dosis de 1000 -  
p.p.m. sólo algunos cultivos conservaban formas esporuladas ,  
mientras en la mayoría no aparecían esporas. La coloración de -  
las bacterias era mucho más ténue, y las formas bacilares apa-  
recían mucho más finas que en el control y algunas con aspecto  
retorcido. En dosis superiores, todas las bacterias aparecen -  
gramnegativas, escasamente teñidas y con una considerable dis-  
minución de tamaño respecto al control; en estos cultivos no -  
aparecen esporas.

Tabla nº I: Influencia del tensoactivo FENOPON T 77 sobre el crecimiento de la microflora presente en una muestra de lodo

días	0h	1	2	5	6	7	8	11	12
ppm									
Control	0.001	0.2	0.32	0.56	0.62	0.64	0.66	0.74	0.74
	0.001	0.19	0.31	0.55	0.61	0.63	0.66	0.74	0.74
	0.001	0.27	0.39	0.63	0.69	0.71	0.73	0.81	0.81
10	0.001	0.12	0.29	0.38	0.47	0.5	0.55	0.7	0.71
	0.001	0.125	0.28	0.47	0.54	0.53	0.55	0.63	0.64
	0.001	0.135	0.275	0.56	0.63	0.66	0.65	0.67	0.7
50	0.001	0.11	0.27	0.47	0.47	0.46	0.47	0.58	0.54
	0.001	0.12	0.25	0.47	0.53	0.54	0.54	0.55	0.57
	0.001	0.12	0.255	0.48	0.54	0.54	0.55	0.63	0.62
100	0.001	0.12	0.22	0.4	0.43	0.45	0.47	0.55	0.54
	0.001	0.12	0.23	0.48	0.43	0.44	0.44	0.46	0.46
	0.001	0.17	0.31	0.41	0.46	0.47	0.52	0.63	0.68
500	0.001	0.13	0.24	0.43	0.38	0.38	0.4	0.43	0.4
	0.001	0.125	0.24	0.33	0.34	0.3	0.33	0.42	0.38
	0.001	0.14	0.27	0.33	0.37	0.35	0.37	0.47	0.41
1000	0.001	0.14	0.205	0.32	0.26	0.21	0.23	0.28	0.25
	0.001	0.115	0.19	0.22	0.24	0.21	0.24	0.29	0.28
	0.001	0.12	0.21	0.21	0.23	0.23	0.27	0.34	0.27
5000	0.001	0.095	0.12	0.225	0.19	0.18	0.19	0.27	0.25
	0.001	0.085	0.12	0.26	0.23	0.22	0.25	0.35	0.33
	0.001	0.09	0.115	0.29	0.33	0.3	0.27	0.25	0.22
10.000	0.001	0.065	0.075	0.13	0.15	0.14	0.16	0.22	0.21
	0.001	0.08	0.095	0.18	0.18	0.18	0.22	0.27	0.23
	0.001	0.07	0.09	0.155	0.15	0.15	0.19	0.2	0.19

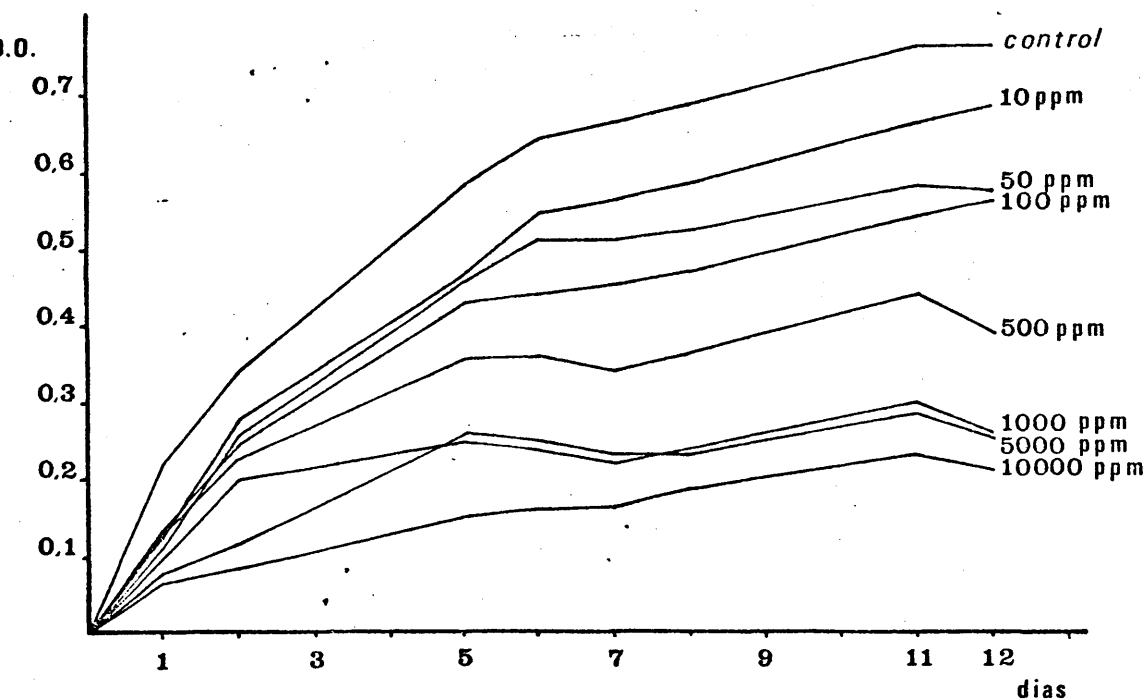


Fig.1.- Influencia del Fenopon T 77 en el crecimiento de la microflora de una muestra de lodo.

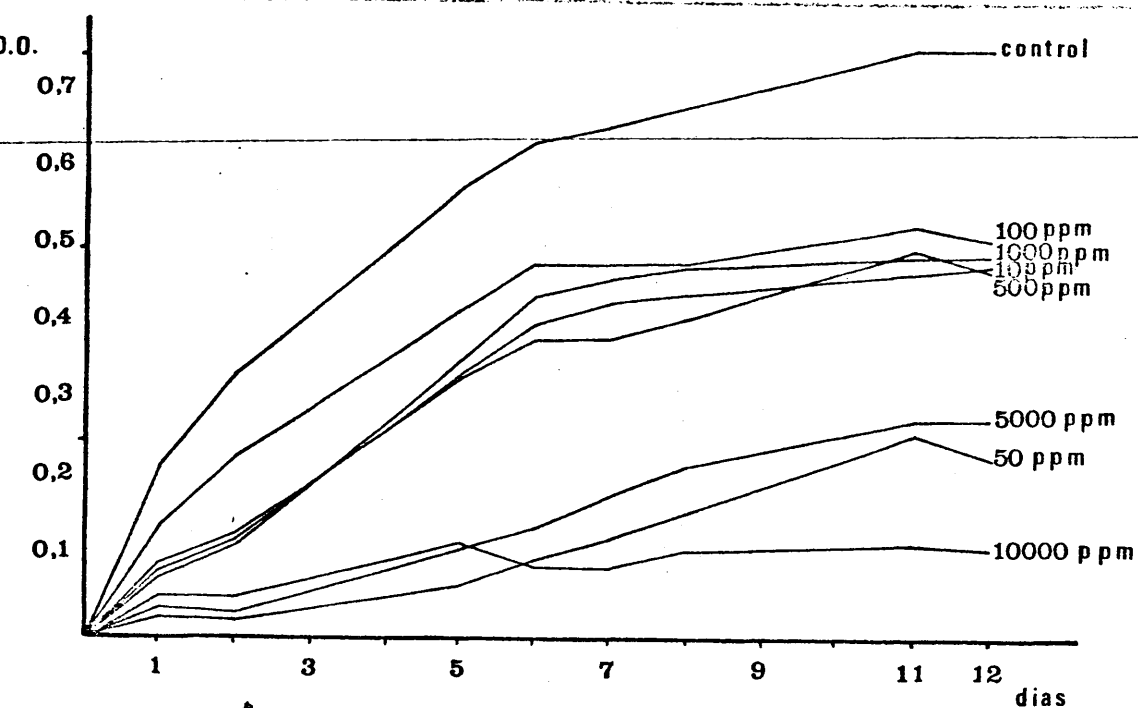


Fig.2.- Influencia del Sodio Dodecil Sulfato en el crecimiento de la microflora de una muestra de lodo.

Tabla nº II: Influencia del tensoactivo SODIO DODECIL SULFATO sobre el crecimiento de la microflora presente en una muestra de lodo

días	0h	1	2	5	6	7	8	11	12
ppm									
Control	0001	02	032	056	062	064	066	074	074
	0001	019	031	055	061	063	066	074	074
	0001	027	039	063	069	071	073	081	081
10	0001	0095	012	032	038	044	044	045	045
	0001	0065	012	036	043	047	049	05	052
	0001	007	0145	035	04	04	041	046	047
50	0001	0025	002	006	011	018	023	034	034
	0001	003	002	0085	01	0145	018	029	027
	0001	003	002	005	009	006	008	015	01
100	0001	0095	015	033	034	036	036	04	039
	0001	016	027	045	057	054	054	064	059
	0001	018	027	048	055	055	056	057	055
500	0001	008	01	037	047	044	047	055	054
	0001	011	012	036	037	037	039	047	045
	0001	01	0165	029	031	035	038	048	046
1000	0001	0175	0135	031	042	045	047	046	045
	0001	008	0165	043	052	053	054	057	058
	0001	0085	016	035	04	042	044	045	045
5000	0001	005	004	012	015	018	021	023	022
	0001	003	003	013	019	023	028	037	039
	0001	0035	003	0105	01	015	0185	024	024
10.000	0001	0035	004	008	008	005	009	012	011
	0001	008	0085	018	013	013	015	015	015
	0001	0035	003	01	006	008	01	008	009

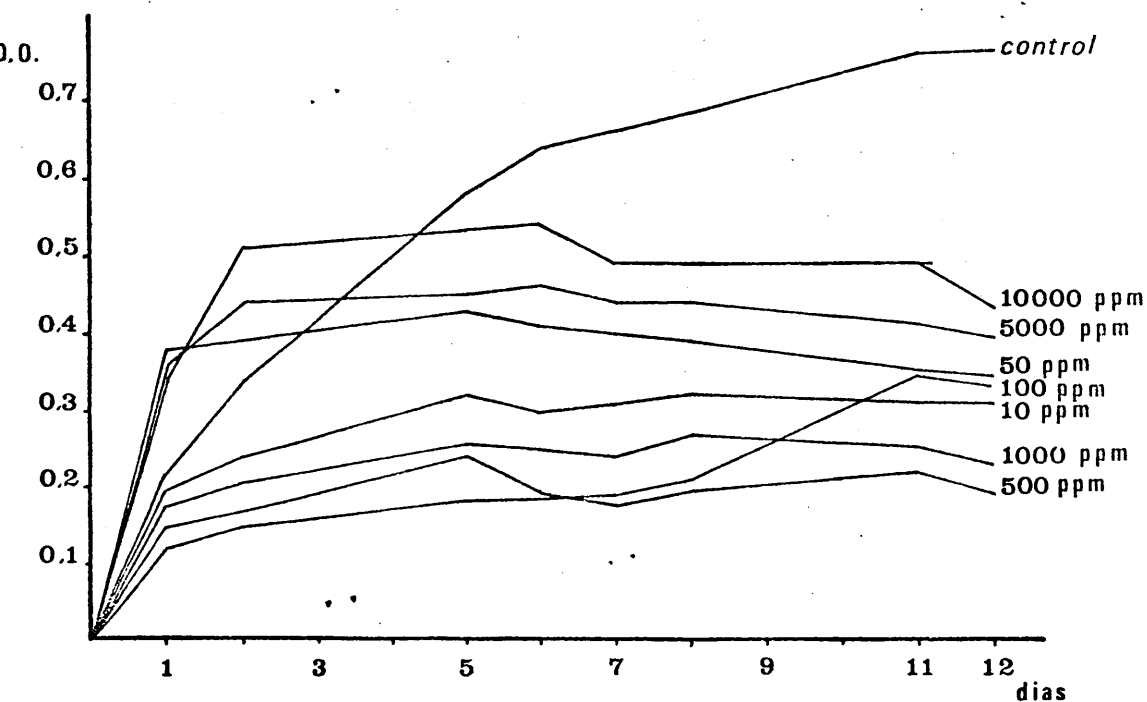


Fig.3.- Influencia del Dobane PT en el crecimiento de la microflora de una muestra de lodo.

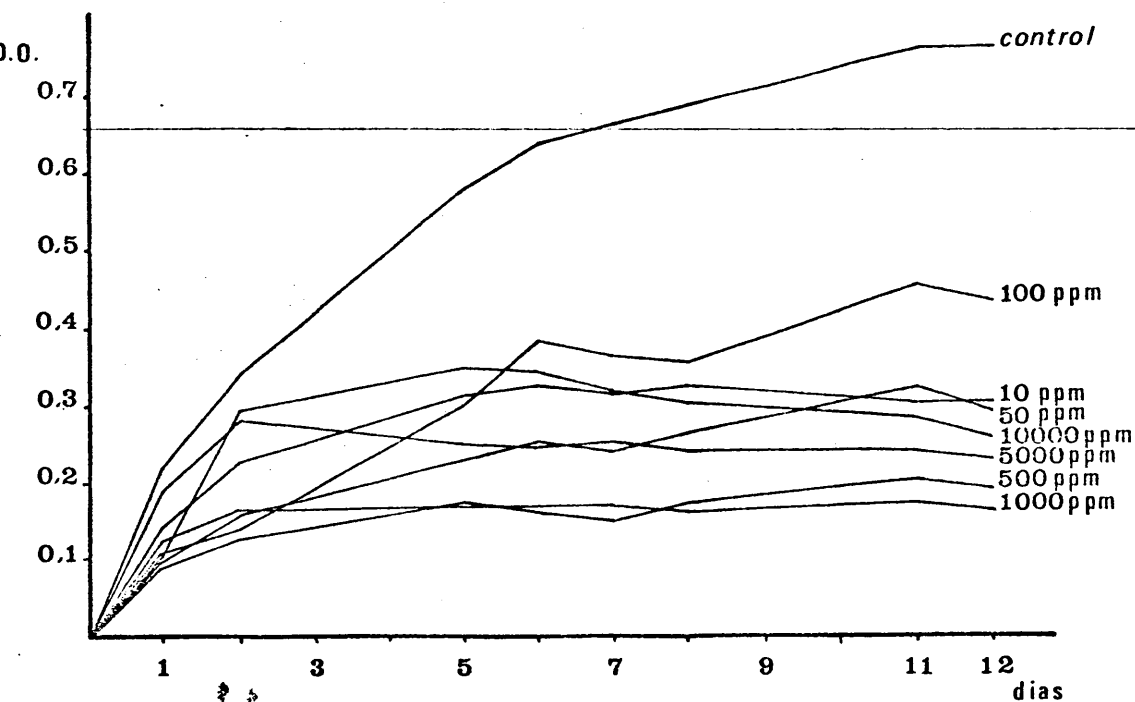


Fig. 4.- Influencia del Dobane JNQ en el crecimiento de la microflora de una muestra de lodo.



Tabla nº III: Influencia del tensoactivo DOBANE PT sobre el crecimiento de la microflora presente en una muestra de lodo.

días	0h	1	2	5	6	7	8	11	12
ppm									
Control	0001	02	032	056	052	064	066	074	074
	0001	019	031	055	061	063	066	074	074
	0001	027	039	063	069	071	073	081	081
10	0001	019	0245	032	03	03	031	029	029
	0001	018	021	032	029	031	032	033	031
	0001	024	027	033	032	032	033	033	033
50	0001	043	043	046	047	046	046	046	039
	0001	043	037	041	035	034	032	02	019
	0001	03	039	043	042	041	041	039	034
100	0001	013	0145	014	014	016	018	034	029
	0001	0125	015	017	016	016	019	036	037
	0001	013	016	025	025	025	026	033	033
500	0001	015	017	0215	021	02	021	02	019
	0001	012	0155	0175	017	017	018	024	018
	0001	018	0205	027	02	019	0205	023	02
1000	0001	016	0195	028	020	029	029	027	022
	0001	019	021	026	027	025	031	028	025
	0001	019	0225	024	021	02	021	022	023
5000	0001	039	046	04	041	039	030	020	028
	0001	036	042	046	047	045	046	046	041
	0001	033	046	05	051	05	05	051	047
10.000	0001	048	06	054	053	049	048	048	04
	0001	032	049	053	057	05	05	05	045
	0001	028	045	052	054	05	049	049	044

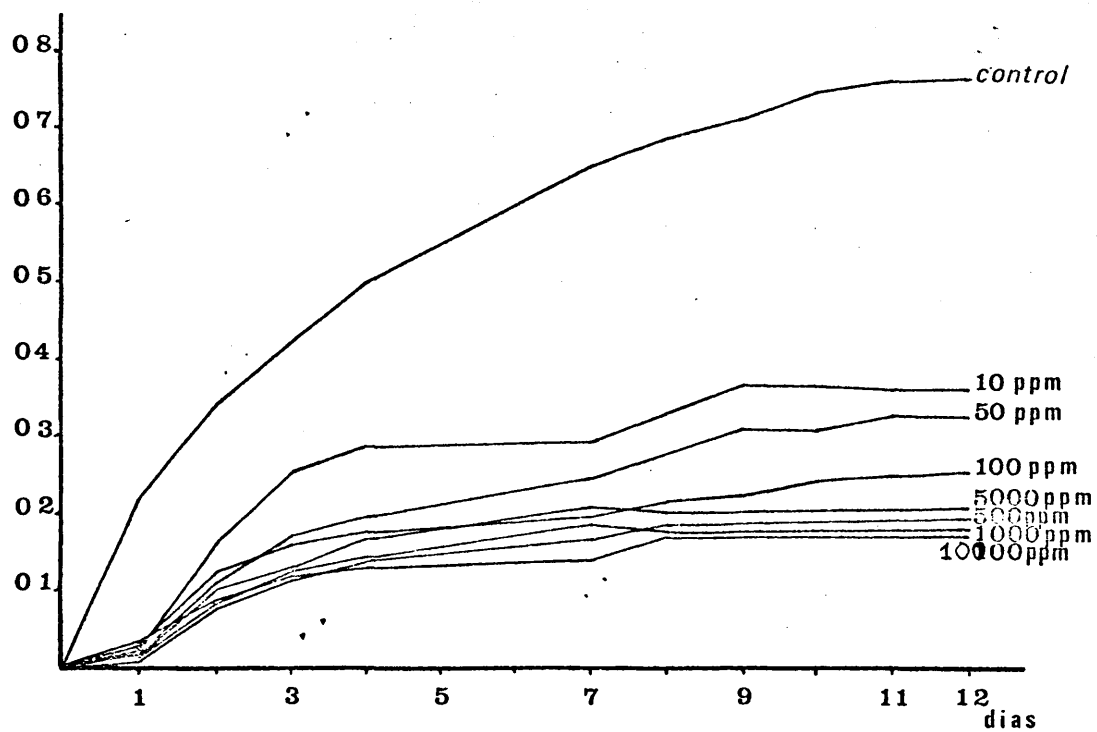


Fig. 5.- Influencia del Lissapol SNXP en el crecimiento de la microflora de una muestra de lodo.

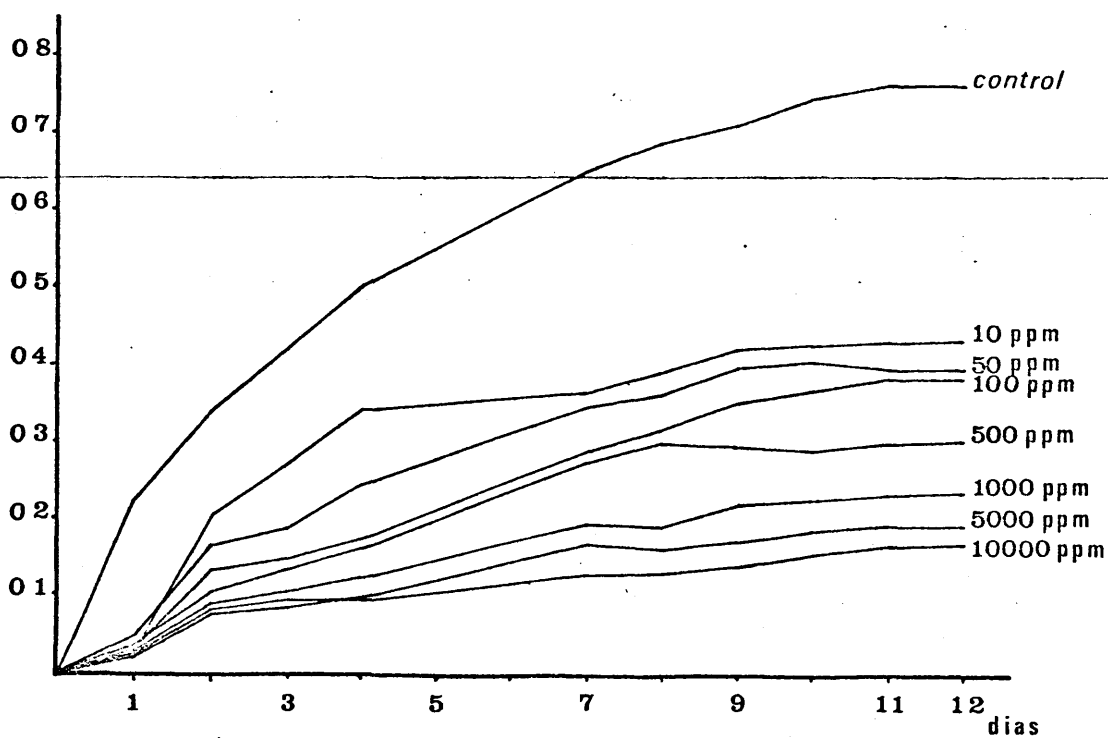


Fig. 6.- Influencia del Lissapol DS en el crecimiento de la microflora de una muestra de lodo.



Tabla nº IV: Influencia del tensoactivo DOBANE JNQ sobre el crecimiento de la microflora presente en una muestra de lodo

días	0h	1	2	5	6	7	8	11	12
ppm									
Control	0001	02	032	056	062	064	066	074	074
	0001	019	031	055	061	063	066	074	074
	0001	027	039	063	069	071	073	081	081
10	0001	0135	02	034	035	031	031	032	032
	0001	014	0235	024	027	024	025	022	029
	0001	0145	024	036	036	039	04	038	05
50	0001	011	014	025	028	029	031	038	035
	0001	01	017	02	02	02	024	039	035
	0001	0105	019	024	027	024	024	019	019
100	0001	0105	012	035	046	045	048	058	058
	0001	011	0145	028	031	028	028	037	032
	0001	011	0165	029	039	035	034	04	04
500	0001	01	0135	0165	016	015	0165	021	019
	0001	01	012	017	016	016	018	021	02
	0001	011	015	019	016	016	017	019	018
1000	0001	011	0145	016	015	016	015	017	018
	0001	0135	018	018	018	018	017	017	014
	0001	014	018	017	017	017	018	018	016
5000	0001	03	034	038	038	037	037	039	037
	0001	017	026	024	024	02	02	016	013
	0001	012	026	013	014	018	016	019	02
10.000	0001	02	035	04	04	037	036	034	032
	0001	006	026	033	031	029	03	027	026
	0001	016	026	33	031	27	26	023	2

Tabla nº V: Influencia del tensoactivo LISSAPOL SNXP sobre el crecimiento de la microflora presente en una muestra de lodo

días	Oh	1	2	3	4	7	8	9	10	11	12
ppm											
Control	0001	02	032	04	048	064	066	07	073	074	074
	0001	019	031	039	047	063	066	068	071	074	074
	0001	027	039	047	055	071	073	077	08	081	081
10	0001	002	0135	022	026	026	028	033	034	033	033
	0001	0025	019	028	031	035	039	04	039	039	039
	0001	002	016	025	0285	029	033	0365	0365	036	036
50	0001	002	011	017	02	028	03	032	031	032	031
	0001	002	0115	018	019	022	026	028	03	033	032
	0001	001	011	017	02	024	019	035	031	032	032
100	0001	004	013	017	017	021	023	024	028	03	03
	0001	0035	011	0125	0135	014	017	018	018	018	018
	0001	0005	013	019	022	024	025	026	028	027	027
500	0001	0005	007	011	012	018	021	021	021	02	02
	0001	001	0085	0115	016	0165	0185	019	019	019	019
	0001	001	007	011	0125	015	016	017	017	018	018
1000	0001	0015	0075	0125	0145	017	017	017	017	017	017
	0001	001	0055	0075	008	011	011	011	0115	012	012
	0001	0015	01	0145	0165	013	023	023	023	023	023
5000	0001	003	0115	013	017	021	021	022	023	023	023
	0001	0005	009	0135	016	024	022	022	021	021	021
	0001	002	0095	0135	017	018	017	018	018	018	018
10.000	0001	004	012	014	015	013	013	012	012	012	012
	0001	001	0125	015	025	023	023	023	023	0235	023
	0001	003	013	0145	016	016	016	016	016	015	016

Tabla nº VI: Influencia del tensoactivo LISSAPOL DS 4429 sobre el crecimiento de la microflora presente en una muestra de lodo

días	0h	1	2	3	4	7	8	9	10	11	12
ppm											
Control	Q001	Q2	Q32	Q4	Q48	Q54	Q56	Q7	Q73	Q74	Q74
	Q001	Q19	Q31	Q39	Q47	Q63	Q66	Q68	Q71	Q74	Q74
	Q001	Q27	Q39	Q47	Q55	Q71	Q73	Q77	Q8	Q81	Q81
10	Q001	Q03	Q23	Q31	Q38	Q34	Q38	Q42	Q42	Q42	Q42
	Q001	Q025	Q16	Q25	Q31	Q36	Q38	Q41	Q42	Q43	Q43
	Q001	Q03	Q23	Q27	Q33	Q4	Q41	Q44	Q44	Q44	Q43
50	Q001	Q05	Q16	Q17	Q26	Q34	Q35	Q4	Q42	Q42	Q42
	Q001	Q055	Q135	Q16	Q205	Q34	Q35	Q36	Q34	Q31	Q31
	Q001	Q06	Q21	Q225	Q28	Q36	Q38	Q43	Q45	Q45	Q45
100	Q001	Q025	Q12	Q14	Q15	Q27	Q3	Q34	Q34	Q36	Q36
	Q001	Q035	Q125	Q135	Q16	Q33	Q35	Q38	Q4	Q41	Q41
	Q001	Q035	Q16	Q18	Q21	Q27	Q3	Q33	Q35	Q37	Q37
500	Q001	Q035	Q105	Q15	Q17	Q3	Q3	Q31	Q32	Q33	Q33
	Q001	Q055	Q09	Q115	Q13	Q21	Q28	Q21	Q21	Q22	Q22
	Q001	Q025	Q13	Q14	Q2	Q32	Q32	Q34	Q34	Q37	Q37
1000	Q001	Q025	Q105	Q12	Q14	Q21	Q21	Q25	Q25	Q26	Q26
	Q001	Q025	Q1	Q13	Q15	Q24	Q24	Q25	Q27	Q27	Q27
	Q001	Q03	Q07	Q075	Q08	Q13	Q125	Q16	Q16	Q17	Q17
5000	Q001	Q025	Q09	Q09	Q1	Q23	Q21	Q22	Q23	Q24	Q24
	Q001	Q025	Q095	Q1	Q115	Q16	Q155	Q16	Q18	Q18	Q18
	Q001	Q015	Q075	Q075	Q085	Q12	Q12	Q13	Q14	Q15	Q15
10.000	Q001	Q025	Q1	Q11	Q11	Q13	Q13	Q14	Q16	Q16	Q16
	Q001	Q03	Q08	Q095	Q1	Q13	Q12	Q13	Q14	Q15	Q15
	Q001	Q02	Q09	Q09	Q09	Q14	Q14	Q15	Q17	Q18	Q18

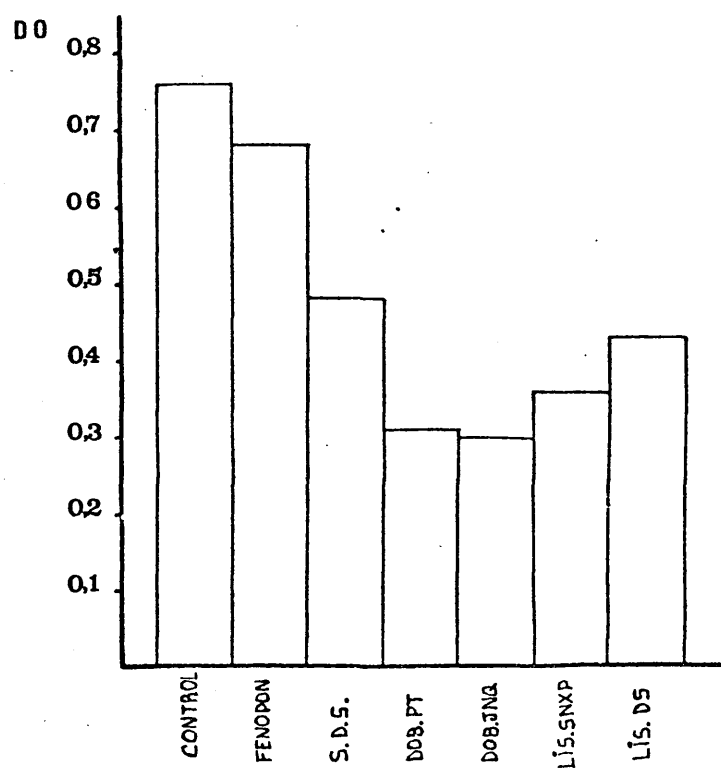


Fig. 7.- Influencia de los distintos tensoactivos en concentración de 10 ppm sobre el crecimiento de la microflora de una muestra de lodo.

### Interpretación de resultados.

De los resultados obtenidos en la influencia de la concentración de tensoactivos sobre la densidad celular de cultivos de la microflora total de las muestras de lodo, observamos, que en general, son toleradas incluso las dosis más elevadas, aunque se aprecia una reducción en los valores de la densidad optica con respecto a los controles que es del orden de un 70% en dosis de 10.000 ppm. de Fenopon T 77, 75% en la misma dosis de Lissapol SN XP, 80% con Lissapol DS 4429 y 85% con Sodio Dodecil Sulfato. En los cultivos Dobane JNQ, se produce una disminución de la densidad optica entre 75 - 80% en dosis de 10, 1000 y 10.000 ppm. mientras que la dosis de 100 ppm. parece ser más favorable, ya que la turbidez de los cultivos aumenta y nos da valores sólo un 40% inferiores al control. Algo similar ocurre para Dobane PT en el que hay una reducción más sensible, del 40 al 50% en las dosis entre 10 y 1000 ppm., mientras que en dosis más altas la densidad optica es incluso superior a la del control en los primeros días para disminuir luego hasta ser solo un 30% inferior a la del control en los cultivos con 10.000 ppm.

Las curvas trazadas tomando la densidad optica frente a días de cultivo presentan diferente aspecto según los distintos tensoactivos, si bien es común a todas ellas la disminución de los valores de turbidez en el tramo final con respecto al control, y casi siempre en relación directa con la dosis de tensoactivo utilizada. En las correspondientes a los cultivos con Fenopon T 77 se observa que en general siguen un curso muy parecido a la del control, lo mismo que para los cultivos con 10 a 1000 ppm. de Sodio Dodecil Sulfato, mientras que las dosis de 50, 5000 y 10.000 ppm. de este último tensoactivo muestran un periodo de adaptación mucho más largo. En los cultivos con Dobane PT las curvas muestran un curso parecido a la curva control dentro de las primeras 48 ho-

ras, si bien, como ya hemos advertido anteriormente, las dosis de 50, 5000 y 10.000 ppm. alcanzan valores muy altos dentro de este período, con un tiempo de adaptación más corto quizás debido a la rápida proliferación de algún grupo de microorganismos mejor dotados para tolerar la presencia del tensoactivo. A partir de las 48 horas los valores de turbidez permanecen casi estacionarios en la mayoría de las dosis mientras que en el control estos valores siguen un curso ascendente hasta el 11º día. Para Dobane JNQ ocurre algo parecido, y en la mayoría de las dosis las curvas entran muy pronto en una fase estacionaria. Solo los cultivos con 100 ppm. - tienen un periodo de adaptación más largo pero luego alcanzan valores superiores al resto de las dosis y, con ligeras fluctuaciones siguen un curso ascendente hasta casi el final de la curva.

Respecto a los dos Lissapol utilizados se observa que - tienen un efecto similar, produciendo en todas las dosis un retraso bastante marcado en la primera parte de las curvas, es decir - que, en comparación con el control existe un periodo de adaptación o de latencia bastante más amplio que es igual para todas -- las concentraciones de estos dos tensoactivos. Después, el resto de las curvas es ya de curso parecido a las del control.

Por otra parte, tanto en los dos tipos de Dobane como - en los dos de Lissapol, se observa que tienen una acción muy marcada ya en la dosis mínima de 10 ppm, haciendo disminuir la densidad celular de los cultivos en proporción muy superior al efecto causado por la misma dosis de Fenopon o de Sodio Dodecil Sulfato.

En cuanto a la observación microscópica de estos cultivos, como ya hemos citado en la exposición de resultados, se han notado alteraciones como son pérdida de grampositividad y en general de la capacidad para fijar el colorante, inhibición de la -

esporulación y pérdida de la movilidad. En la bibliografía consultada hemos encontrado algunos datos cuya exposición creemos interesante ya que pueden estar relacionados con las observaciones hechas por nosotros, así, ya en 1942 Lominsky encontró que los jabones y tensoactivos conseguían inhibidor de la movilidad de algunas especies de *Proteus* por desaparición de sus característicos flagelos sin afectar a sus propiedades de crecimiento. -- Kopp (1965) mostró en estudios realizados con *Proteus mirabilis* que los alquilsulfatos lineales primarios inhibían la movilidad con mayor efectividad cuanto mayor era la longitud de la cadena carbonada, pero no estableció si este era el resultado de un ataque directo sobre los flagelos o de una inhibición de la formación de flagelos. Este mismo investigador observó también que el Sodio Dodecil Sulfato a nivel de 100 - 1000 ppm. puede causar una considerable ruptura o parcial desintegración de los flagelos de otras especies bacterianas y Bishop (1967) vió que a 1000 - 2500 ppm - Sodio Dodecil Sulfato puede solubilizar parte de la proteína de las membranas citoplásmicas aisladas de *Bacillus subtilis*.

La mayoría de los autores consultados coinciden en que la acción que ejercen los tensoactivos sobre los microorganismos radica en su reactividad hacia las proteínas, a menudo reversibles.

Según Swisher (1970) las reacciones proteínas-tensoactivo pueden ocurrir con proteínas vitales de las células bacterianas -- intactas y también ciertamente ocurren con proteínas purificadas en solución acuosa. Algunos de los radicales R de las cadenas proteicas llevan grupos carboxílicos ácidos libres, y, otros, llevan grupos amino u otros grupos básico libre. Las atracciones y repulsiones entre estos juegan importante papel en la determinación de la configuración de la molécula proteica en solución, pero además suministran puntos focales para la interacción con las moléculas-

de tensoactivo y así los grupos amino cargados positivamente -- atraen los iones cargados negativamente de los tensoactivos ani<sup>ó</sup>nicos, lo mismo que los grupos carboxilato atraen a los iones con carga positiva de los catiónicos. Existen numerosos trabajos relativos a la acción de tensoactivos, sobre todo Sodio Dodecil Sulfato o ciertos Alquibencenosulfonatos dentro de los ani<sup>ó</sup>nicos, sobre diversos tipos de proteínas, y entre ellos citaremos los de Ray (1966) Decker (1967) y Reynolds (1967) sobre seroalbúminas y los de Cheesman (1968) sobre caseína y Pitt-Rivers (1968) sobre 14 proteínas diferentes.

También pueden entrar en juego otras atracciones capaces de actuar sobre los tres tipos de tensoactivos, ani<sup>ó</sup>nicos, catiónicos y no i<sup>ó</sup>nicos. Ray y Decker afirman que las fuerzas iónicas tienen sólo un significado mínimo en la formación de complejos proteínas-tensoactivos y que juegan un papel mucho más importante las interacciones hidrofóbicas actuando de forma similar a las responsables de la formación de micelas en simples soluciones acuosas de tensoactivos. Según esto, los no i<sup>ó</sup>nicos formarían complejos con las proteínas casi tan fácilmente como los hacen los i<sup>ó</sup>nicos. Existen todavía pocos trabajos, pero aún así se van acumulando evidencias de tal interacción como se deduce de los experimentos de Dowben (1961) con OPE<sub>10</sub> sobre albúminas plasmáticas--bovinas, Imanishi (1965) con Nonilfenol E20, Cowgill (1968) con Tween 80 y Cheeseman (1968) con OPE<sub>10</sub> sobre caseína.

Las interacciones tensoactivo-proteína pueden tener distintos resultados : Una proteína disuelta puede ser precipitada y una insoluble puede resultar disuelta. Las proteínas complejas pueden ser disociadas en subunidades igual que una proteína simple puede ser desenrollada o cambiada de configuración si las valencias secundarias saturadas de la proteína son desplazadas por el tensoactivo. Bajo circunstancias apropiadas por ejemplo por di-



fusión a través de una membrana permeable al tensoactivo y no a la proteína, ambos pueden ser separados y en algunos casos la proteína original es recobrada intacta mientras que en otros puede haber sufrido un cambio irreversible.

A la vista de esta serie de datos expuestos, no debe sorprendernos el hecho de que los flagelos bacterianos resulten afectados por la presencia de tensoactivos y con ello resulte suprimida la movilidad, si tenemos en cuenta que estos orgánulos son estructuras de origen citoplásmico que se componen en general casi exclusivamente de una proteína fibrosa a la que se ha denominado flagelina. Sin embargo, en ningún caso se trata de alteraciones irreversibles ya que al trasladarlos a medio de cultivo sin tensoactivos, los microorganismos recuperan su movimiento característico.

Respecto a las variaciones observadas en la tinción por el método de Gram creemos que podrían obedecer a cambios en la permeabilidad de las paredes bacterianas sometidas a la acción de los tensoactivos ya que la mayor parte de los trabajos sugieren que es en este factor de permeabilidad donde radica el fundamento de la coloración. Según Bartholomew y Mittner, las células grampositivas

negativas absorben el colorante primario aproximadamente en igual cantidad como consecuencia de una unión iónica entre los grupos básicos del colorante y los grupos ácidos de la célula. El yodo en solución acuosa penetra en los dos tipos de células y forma un precipitado con el colorante que se encuentra allí presente, bien desplazándolo de las proteínas, bien combinándose con él "in situ". En las células grampositivas el alcohol penetra difícilmente ya que probablemente determina una disminución del tamaño de los poros del glucopéptido de la pared, la disolución del complejo colorante - yodo es lenta y su eliminación aún más lenta, de forma que la mayor parte de él queda en la célula, que guarda así su coloración. Las

bacterias gramnegativas contienen mucho menor proporción de glucopéptido y éste está menos entrecruzado dejando poros que quedan lo suficientemente amplios aún después del tratamiento con etanol como para que este penetre fácilmente y disuelva el complejo colorante-iodo eliminándolo y dejando la célula incolora.

Existen numerosos trabajos que han tratado de los factores susceptibles de retirar a las bacterias su carácter grampositivo. Según Lambin y Germain (1969), Webb demostró que la lisozima produce una variación hacia la gramnegatividad al eliminar de las células los polisacáridos y ácidos ribonucleídos. El tratamiento con eter caliente tiene igual resultado al arrastrar un lipóide. Henry y Stacey exponiendo *Welchia perfringens* a la acción de la bilis al 2% a 60°C obtuvieron ese mismo cambio de colorabilidad con pérdida por la célula de ribonucleato de magnesio, polisacáridos y algo de proteína. La eliminación de estas sustancias como lipoproteínas, mucopolisacáridos o ribonucleato de magnesio aumenta la permeabilidad de la célula que pierde su coloración de Gram bajo la acción del alcohol igual que una célula gramnegativa.

No hemos encontrado en la bibliografía ninguna referencia respecto a la influencia de los tensoactivos en la formación de esporas por las bacterias. Durante los últimos años se ha venido acumulando información sobre la arquitectura molecular de la endospora bacteriana cuyas cubiertas están constituidas principalmente de proteínas con mayor proporción de Cisteína que en las células vegetativas, y menor cantidad de lípidos y glucopéptido. El protoplasto contiene ADN, ARN y proporción elevada de ácido dipicolínico, ausente en las formas vegetativas, en forma de sal calcica. En cuanto a las reacciones metabólicas que se suceden durante la esporulación, se sabe que ciertos componentes se sintetizan a partir de depósitos intracelulares de compuestos de bajo peso molecular, entre ellos aminoácidos y nucleótidos púricos y pirimidínicos. Además parece que algunas proteínas se obtienen directa

mente a expensas de la célula vegetativa, y que el ácido dipicolínico se forma a partir del ácido diaminopimélico de la pared bacteriana.

El hecho de que hayamos encontrado una ausencia de esporulación en los cultivos en presencia de ciertas dosis de tensoactivos podría obedecer a la interacción de estos compuestos con las proteínas estructurales de las esporas, aunque por otra parte podría ser una de las consecuencias de la alteración de la membrana plasmática ya que numerosos autores consideran a los detergentes de síntesis como sustancias que desintegran la membrana y alteran su estructura fisicoquímica causando una desorganización general en el funcionamiento celular (Stanier, Doudoroff, - Adelberg, 1965. Rose 1968).

VIII.2.- Tolerancia de las estirpes bacterianas aisladas frente a distintas dosis de Fenopon T 77 y Sodio Dodecil Sulfato.-

Todas las estirpes se han cultivado según el método descrito en el apartado 8 del Capítulo de Material y Métodos, midiendo la densidad optica a 500 mm. Los resultados se expresan en las tablas VII a XL y en las figuras 8 a 41.

A las 24 y 48 horas de incubación se hicieron preparaciones para la observación al microscopio. Como resultado de estas observaciones podemos decir que en general se produce una pérdida de la movilidad desde las dosis más pequeñas de tensoactivo, reducción del tamaño de las células en comparación con los controles, - siendo frecuente el encontrar formas redondeadas que parecen protoplastos o esferoplastos a partir de dosis más altas, 1000-5000 ppm. salvo *Bacillus licheniformis* en que aparecen ya en dosis de 10 ppm. de Sodio Dodecil Sulfato. No hemos encontrado esporas en los cultivos de *Bacillus* con dosis de 500 a 1000 ppm. y superiores. Por otra parte, se notó una disminución de la coloración adquirida por las bacterias después de la tinción de Gram, más aparente en las dosis más elevadas, que aparecían apenas teñidas. Las bacterias gram positivas, en dosis superiores a 500 ó 1000 ppm. aparecen como gram negativas con una coloración muy débil.

Tabla nº VII: Grado de tolerancia de la estirpe A3 frente a distintas dosis del tensoactivo FENOPON I 77

días	0h	16h	1	2	3	4	5	6	14
ppm									
Control	0001 0045	0008 0045	0009 0045	0011 0045	0012 0045	0013 0045	0014 0045	0015 0045	0016 0045
10	0001 0045	0008 0045	0009 0045	0011 0045	0012 0045	0013 0045	0014 0045	0015 0045	0016 0045
50	0001 0045	0008 0045	0009 0045	0011 0045	0012 0045	0013 0045	0014 0045	0015 0045	0016 0045
100	0001 0045	0008 0045	0009 0045	0011 0045	0012 0045	0013 0045	0014 0045	0015 0045	0016 0045
500	0001 0045	0008 0045	0009 0045	0011 0045	0012 0045	0013 0045	0014 0045	0015 0045	0016 0045
1000	0001 0045	0008 0045	0009 0045	0011 0045	0012 0045	0013 0045	0014 0045	0015 0045	0016 0045
5000	0001 0045	0008 0045	0009 0045	0011 0045	0012 0045	0013 0045	0014 0045	0015 0045	0016 0045
10.000	0001 0045	0008 0045	0009 0045	0011 0045	0012 0045	0013 0045	0014 0045	0015 0045	0016 0045



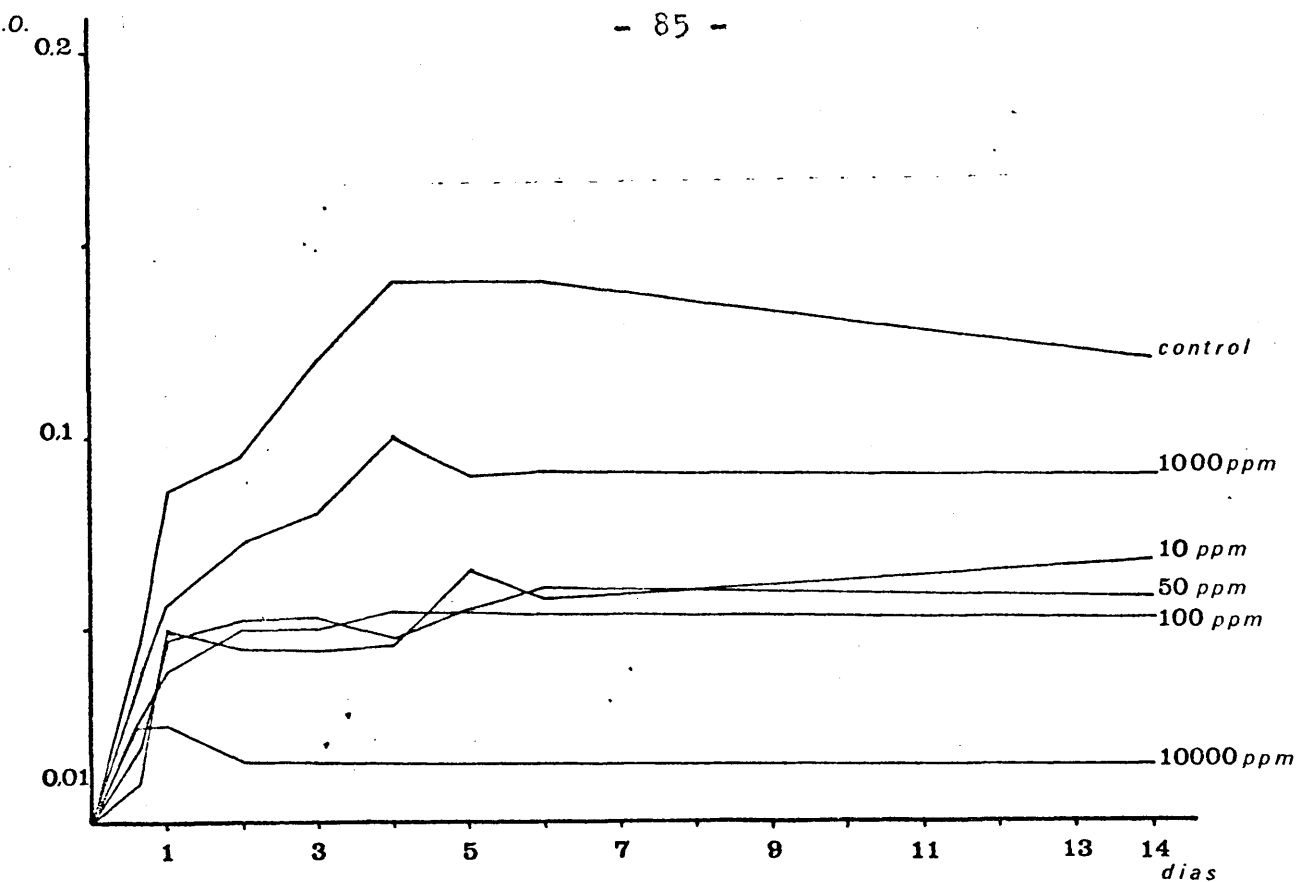


Fig. 8.- Influencia del Fenopon T77 en el crecimiento de *B. pumilus* (est. A3)

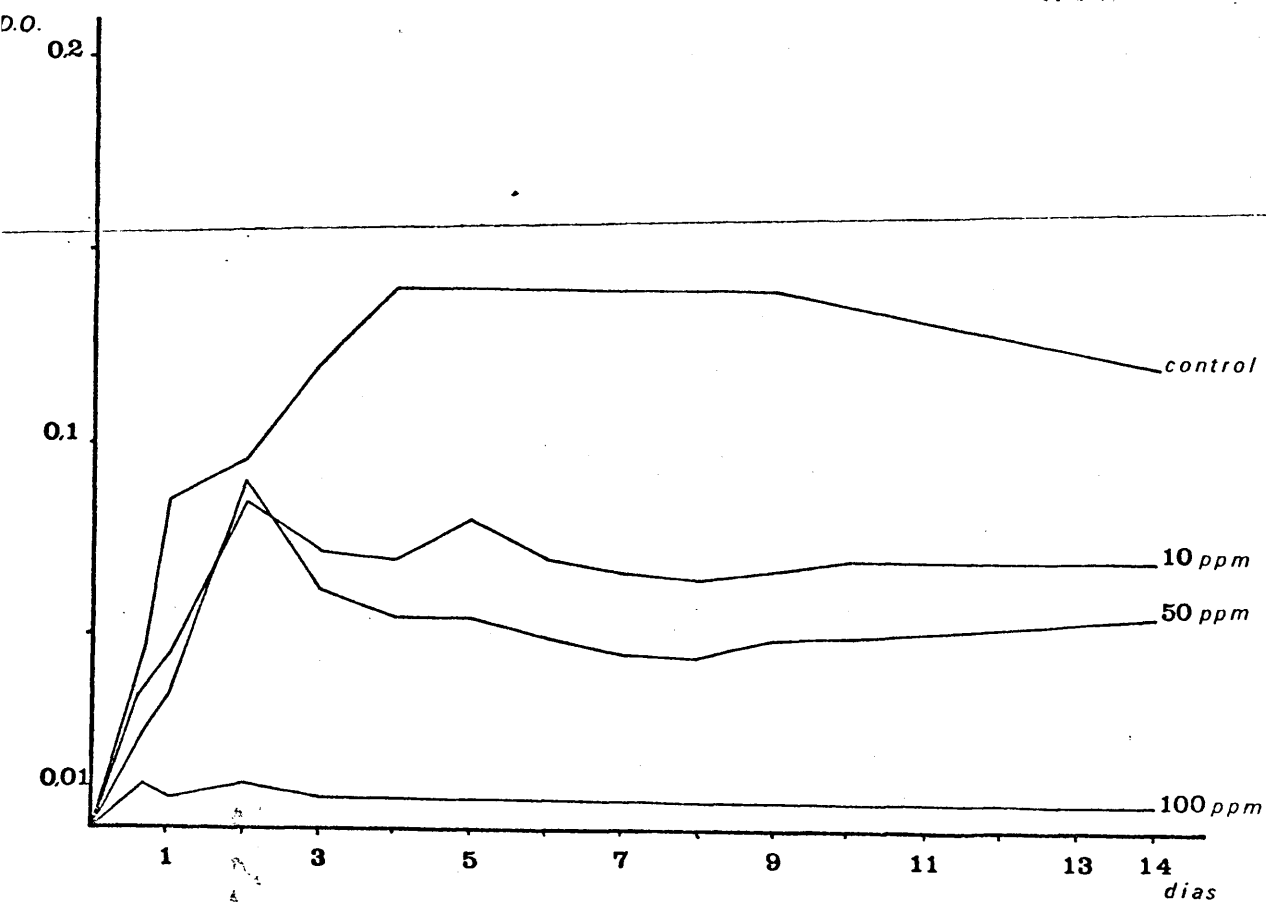


Fig. 9.- Influencia del Sodio Dodecil Sulfato en el crecimiento de *B. pumilus* (est. A3)





Tabla nº X: Grado de tolerancia de la estirpe M101 frente a distintas dosis del-tensoactivo SODIO DODECIL SULFATO

[illegible]

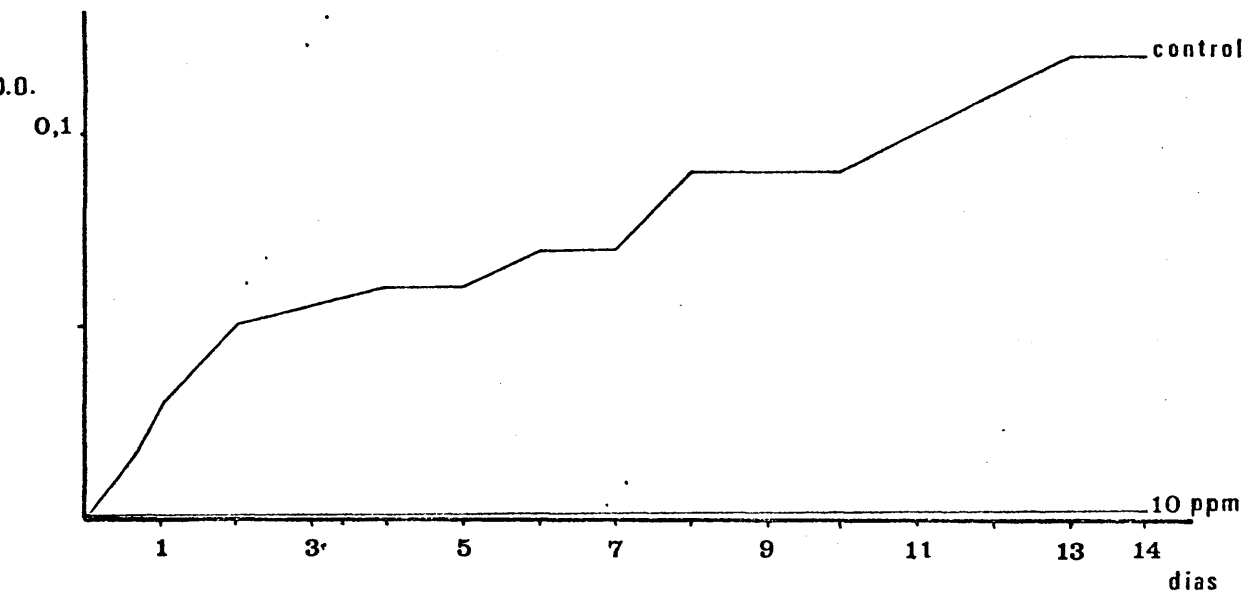


Fig. 10.- Influencia del Fenopon T 77 en el crecimiento de *Bacillus* s.p. (M101)

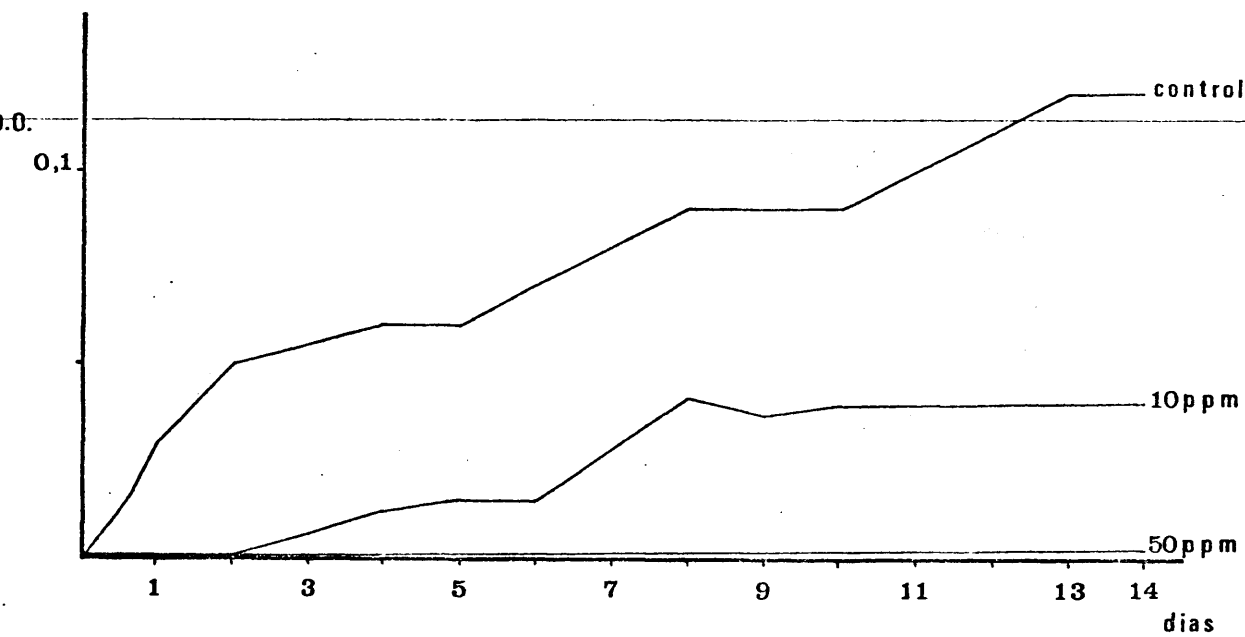


Fig. 11.- Influencia del Sodio Dodscil Sulfato en el crecimiento de *Bacillus* s.p. (M 101)

[illegible]

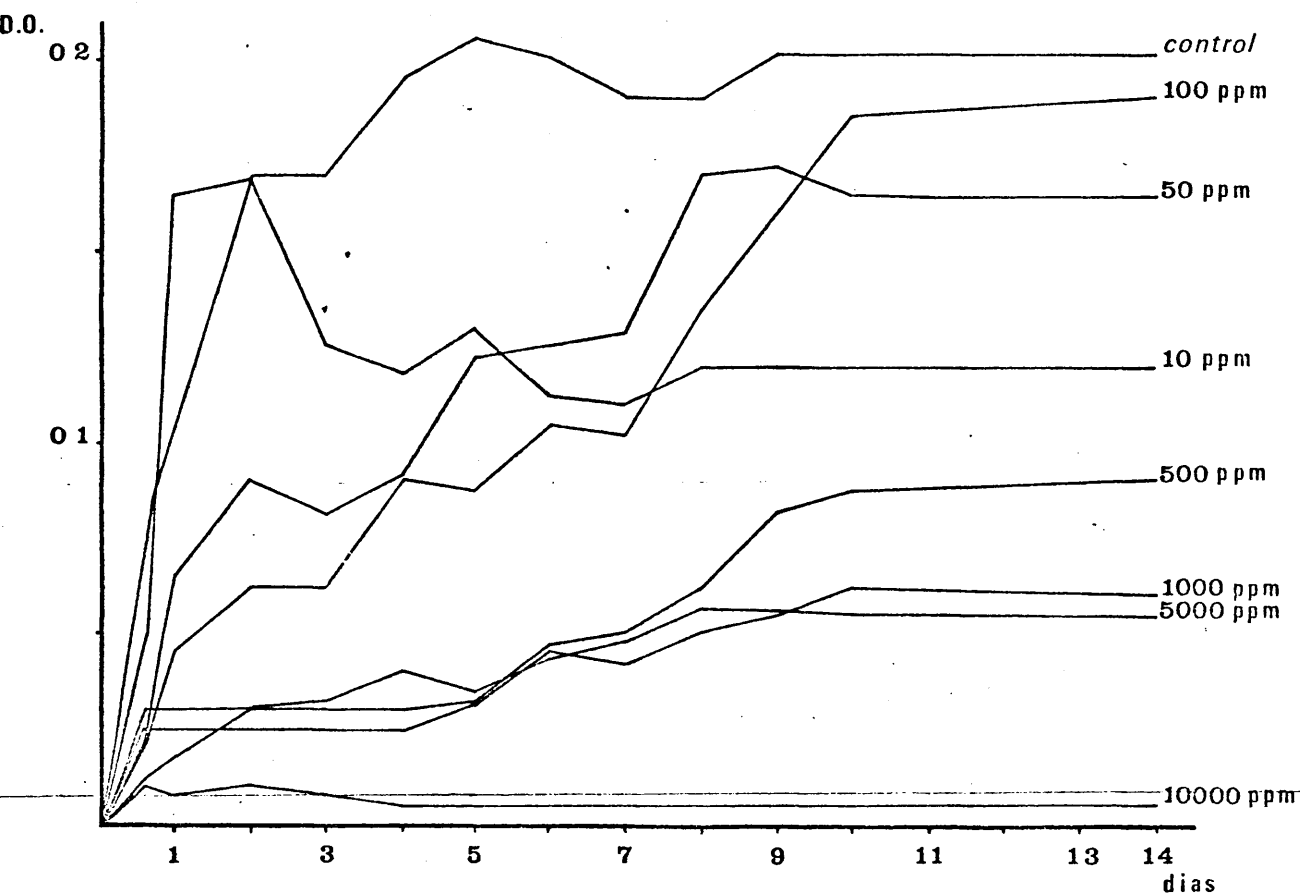


Fig. 12.- Influencia del Fenopon T 77 en el crecimiento de *B. pantothenicus* (M41)

Tabla nº XII: Grado de tolerancia de la estirpe M41 frente a distintas dosis del tensoactivo SODIO DODECIL SULFATO.

[illegible]

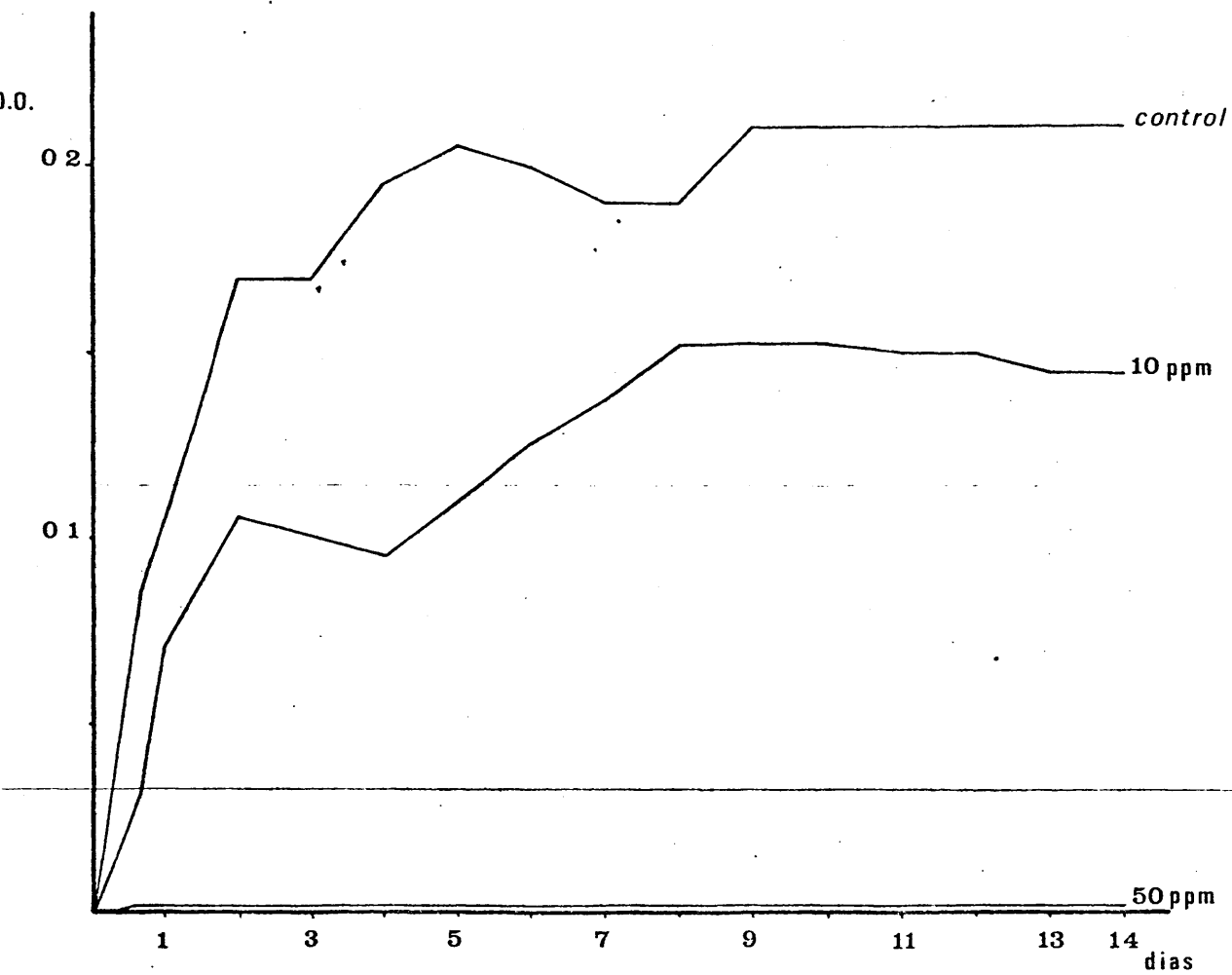


Fig. 13.- Influencia del Sodio Dodecil Sulfato en el crecimiento de *B. pantothe: cus* (M 41).







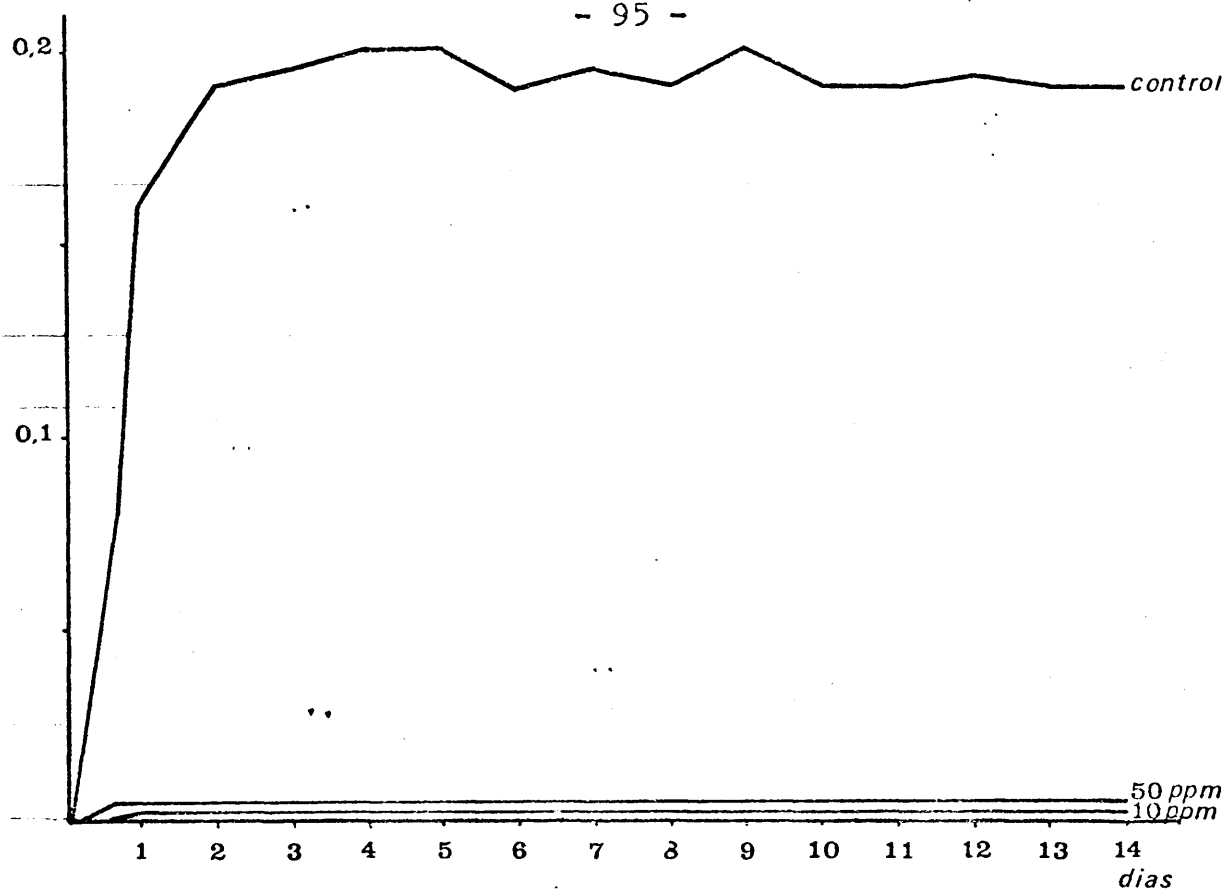


Fig. 14.- Influencia del Fenopon T77 en el crecimiento de *B. pulvifaciens* (Fig. 24)

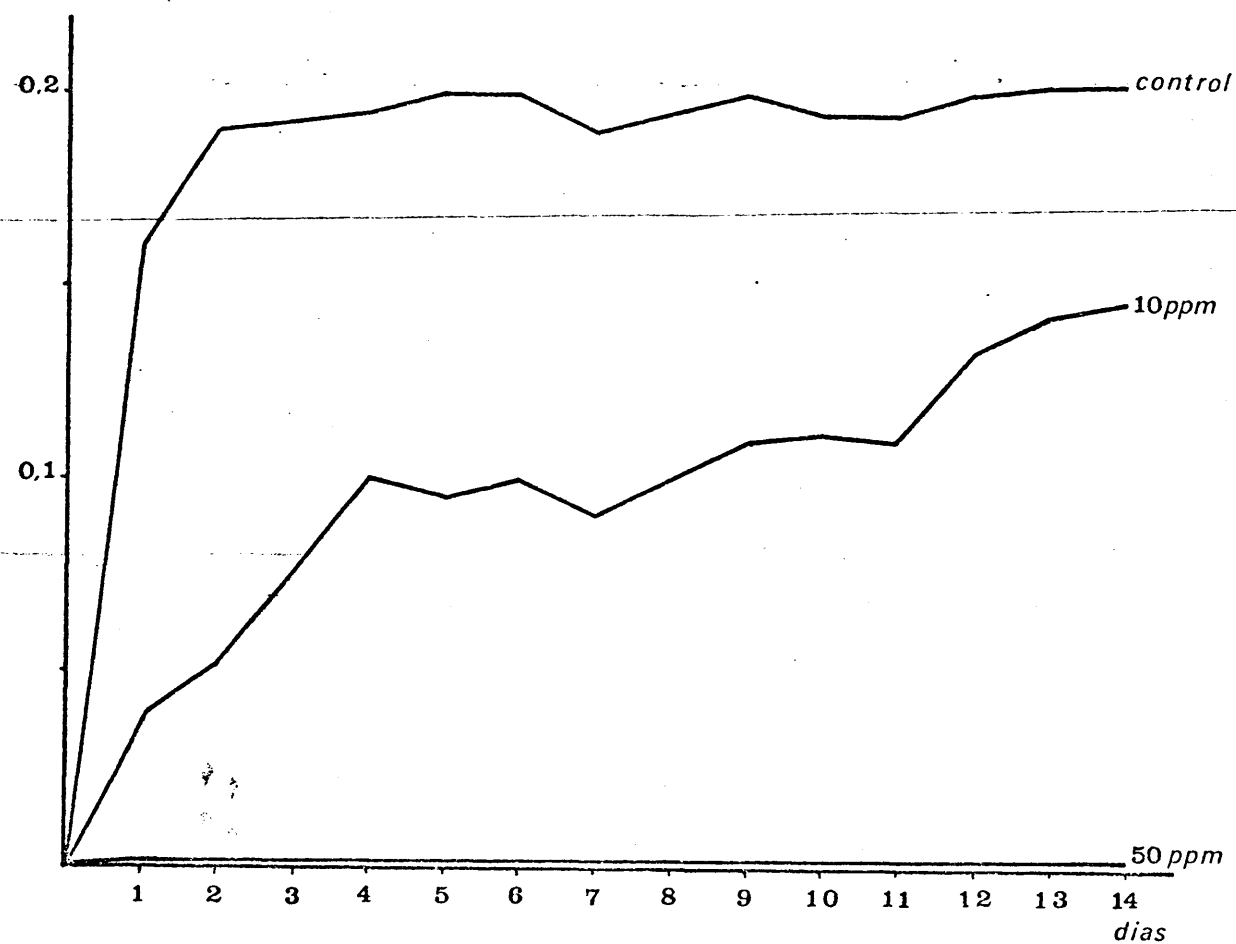




Tabla nº XVI: Grado de tolerancia de la estirpe C2 frente a distintas dosis del tensoactivo SODIO DODECIL SULFATO

[illegible]

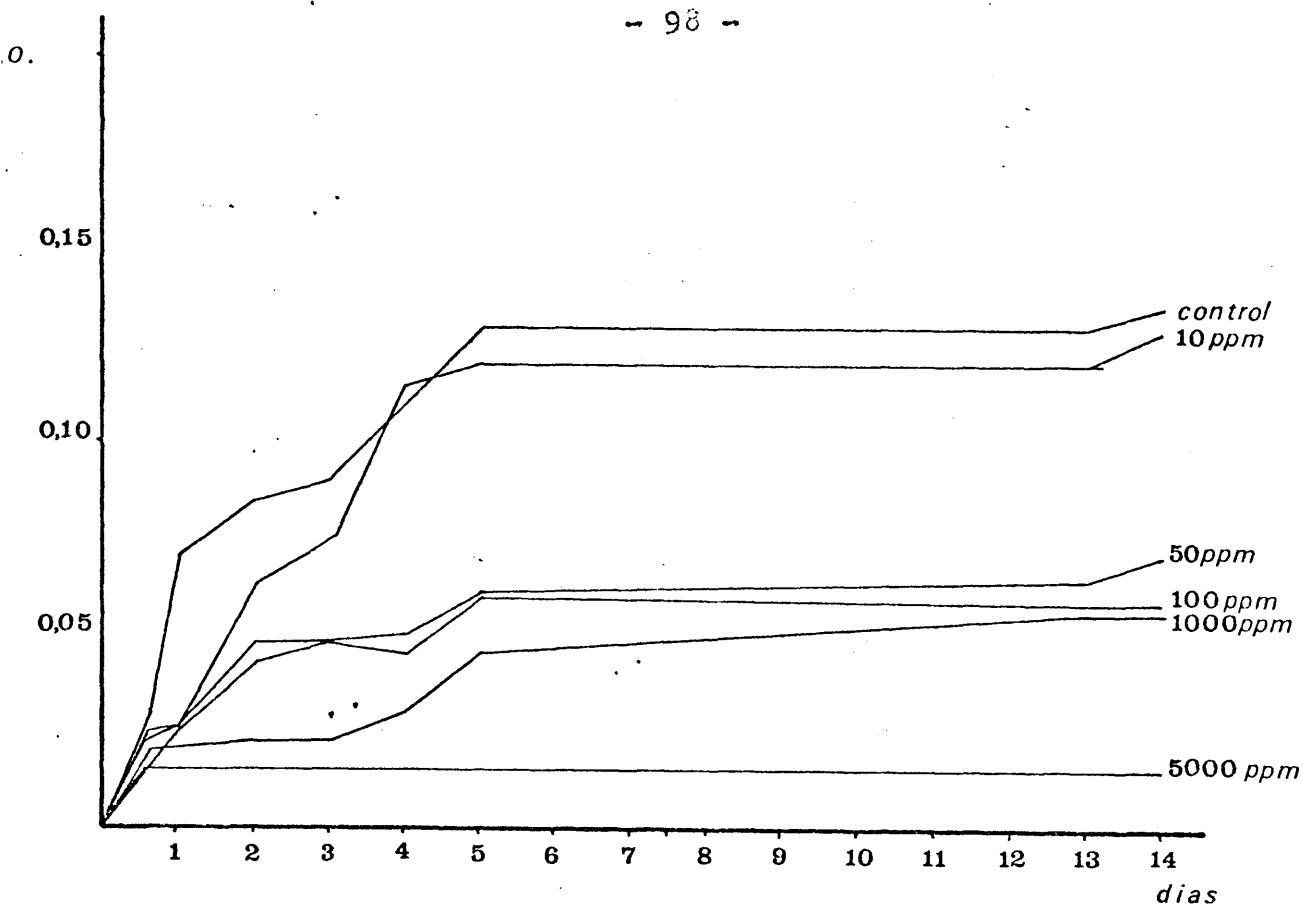
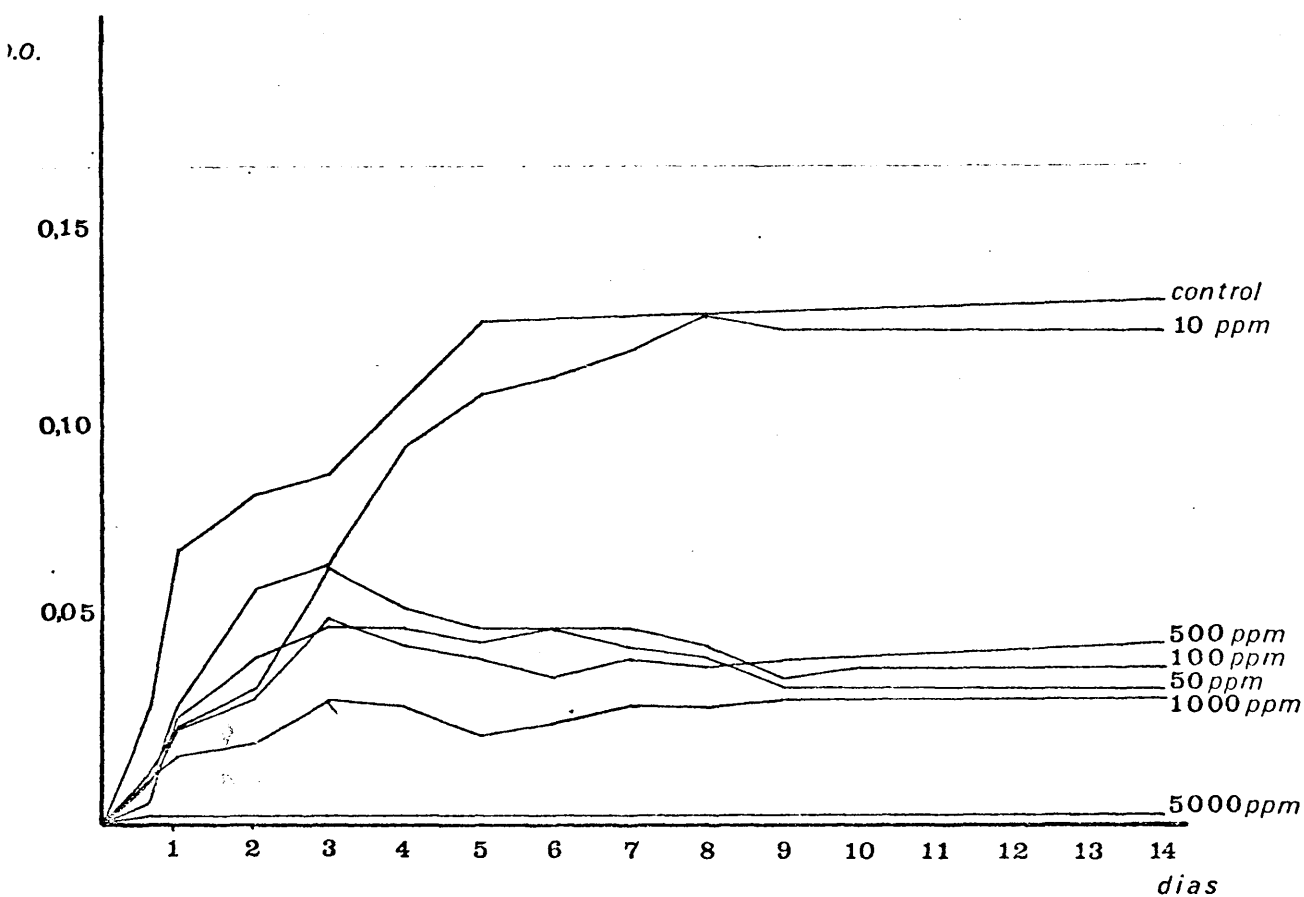


Fig. 16.- Influencia del Fenopon T77 en el crecimiento de *B. licheniformis* (C 2)



[illegible]



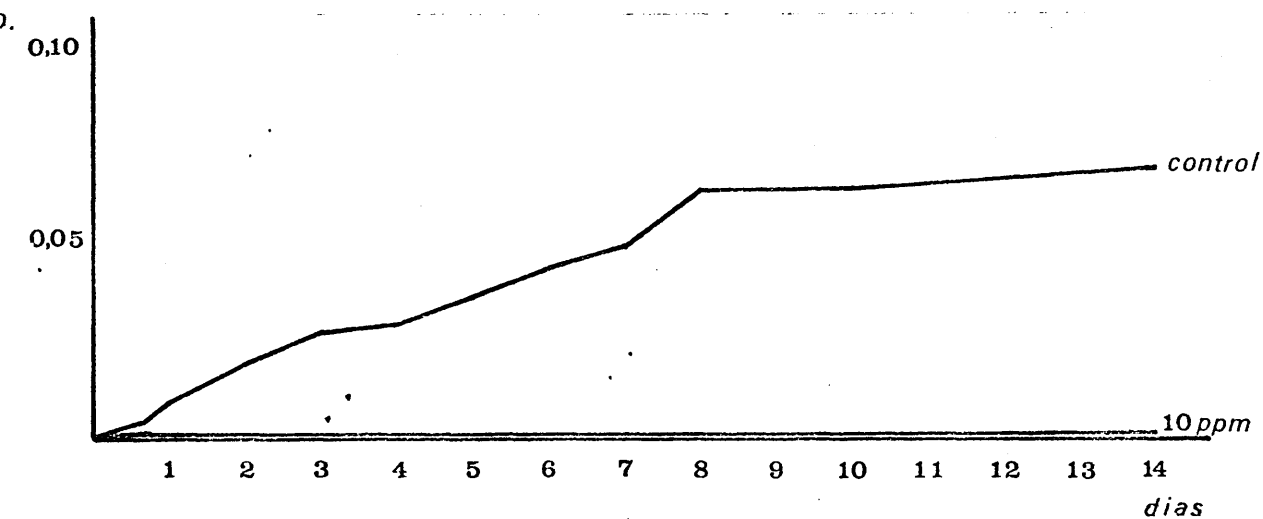


Fig. 18.- Influencia del Fenopon T 77 en el crecimiento de *Brevibacterium erythrogenes* (M 21)

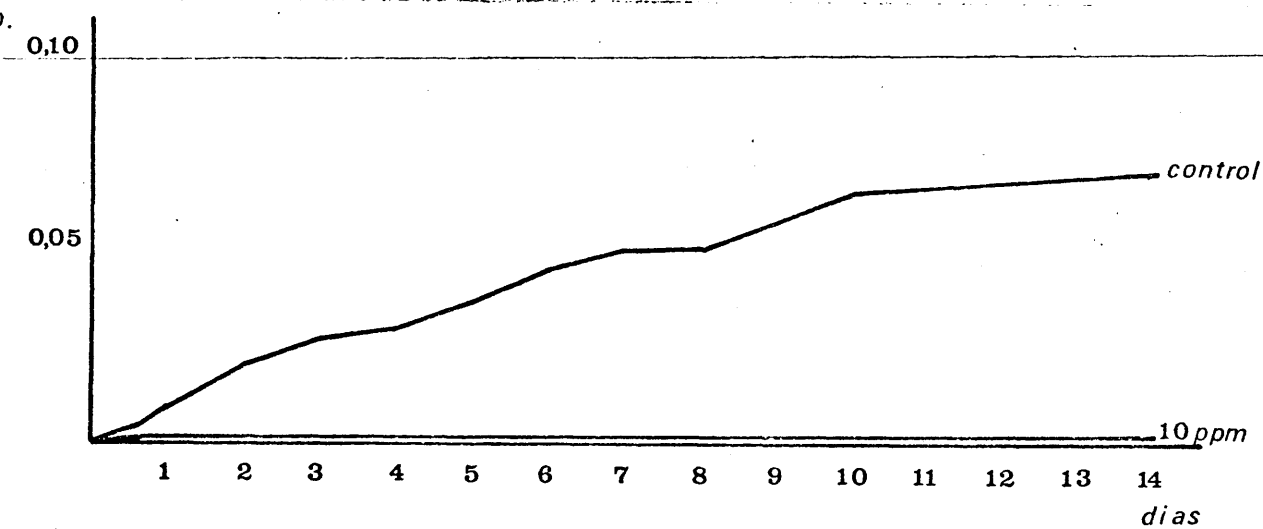


Fig. 19.- Influencia del Sodio Dodecil Sulfato en el crecimiento de *Brevibacterium erythrogenes* (M 21).

Tabla nº XIX: Grado de tolerancia de la estirpe M62 frente a distintas dosis del tensoactivo FENOPON T 77

días	0h	16h	1	2	4	5	6	8	9	11	12	14	15
ppm													
Control	Q001	Q06	Q08	Q1	Q09	Q09	Q085	Q075	Q085	Q085	Q085	Q1	Q105
	Q001	Q075	Q09	Q115	Q1	Q095	Q085	Q08	Q085	Q09	Q09	Q11	Q115
	Q001	Q075	Q1	Q115	Q11	Q1	Q09	Q085	Q09	Q095	Q095	Q12	Q125
10	Q001	Q04	Q1	Q12	Q12	Q11	Q11	Q11	Q09	Q09	Q09	Q09	Q09
	Q001	Q04	Q105	Q125	Q125	Q12	Q11	Q11	Q095	Q09	Q09	Q09	Q09
	Q001	Q045	Q11	Q13	Q13	Q13	Q115	Q11	Q1	Q095	Q09	Q09	Q09
50	Q001	Q04	Q1	Q125	Q135	Q13	Q13	Q165	Q175	Q185	Q175	Q175	Q175
	Q001	Q045	Q11	Q13	Q14	Q15	Q15	Q17	Q18	Q19	Q18	Q18	Q16
	Q001	Q04	Q105	Q125	Q13	Q14	Q14	Q16	Q175	Q18	Q17	Q17	Q17
100	Q001	Q045	Q1	Q105	Q13	Q125	Q13	Q145	Q17	Q175	Q17	Q175	Q175
	Q001	Q045	Q1	Q105	Q13	Q12	Q13	Q145	Q165	Q17	Q165	Q17	Q17
	Q001	Q05	Q105	Q12	Q135	Q13	Q135	Q15	Q175	Q18	Q175	Q18	Q18
500	Q001	Q04	Q075	Q11	Q135	Q14	Q14	Q17	Q175	Q205	Q205	Q2	Q2
	Q001	Q04	Q08	Q145	Q15	Q15	Q15	Q175	Q18	Q21	Q21	Q205	Q205
	Q001	Q04	Q075	Q11	Q135	Q135	Q135	Q165	Q17	Q205	Q2	Q195	Q195
1000	Q001	Q04	Q06	Q09	Q13	Q13	Q135	Q16	Q16	Q185	Q185	Q19	Q19
	Q001	Q05	Q07	Q12	Q16	Q16	Q165	Q19	Q19	Q215	Q21	Q22	Q22
	Q001	Q045	Q065	Q09	Q135	Q135	Q14	Q16	Q165	Q19	Q19	Q19	Q19
5000	Q001	Q03	Q06	Q06	Q175	Q16	Q175	Q18	Q19	Q225	Q21	Q22	Q22
	Q001	Q035	Q06	Q065	Q175	Q165	Q175	Q185	Q195	Q225	Q215	Q22	Q22
	Q001	Q04	Q065	Q07	Q18	Q17	Q18	Q21	Q215	Q26	Q235	Q25	Q25
10.000	Q001	Q015	Q03	Q04	Q07	Q07	Q08	Q105	Q115	Q145	Q135	Q13	Q13
	Q001	Q015	Q035	Q04	Q07	Q065	Q07	Q105	Q11	Q14	Q13	Q13	Q13
	Q001	Q02	Q04	Q045	Q1	Q09	Q105	Q135	Q14	Q17	Q16	Q16	Q16



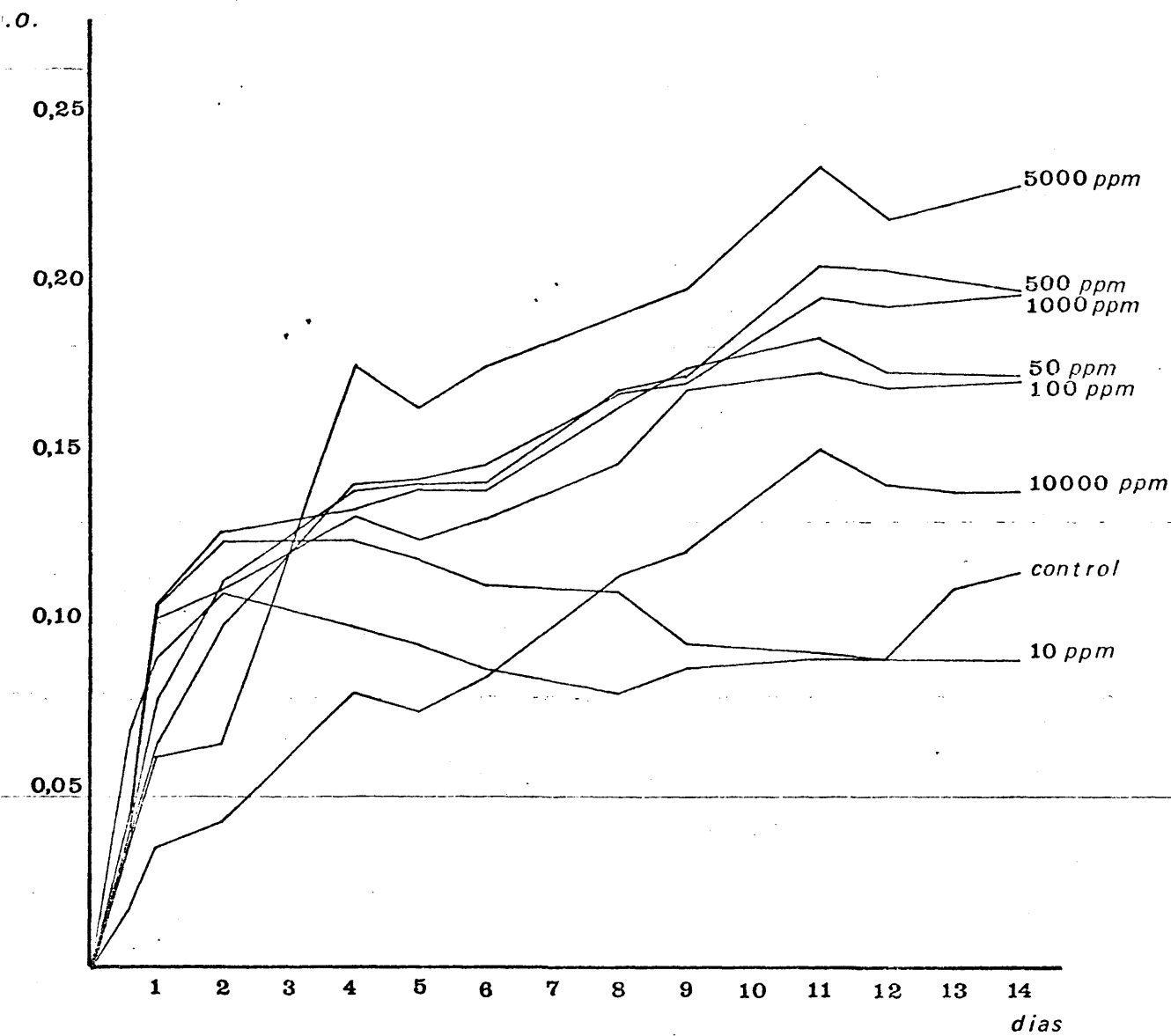


Fig. 20.- Influencia del Fenopon T 77 en el crecimiento de *Micrococcus ureae* (Mc



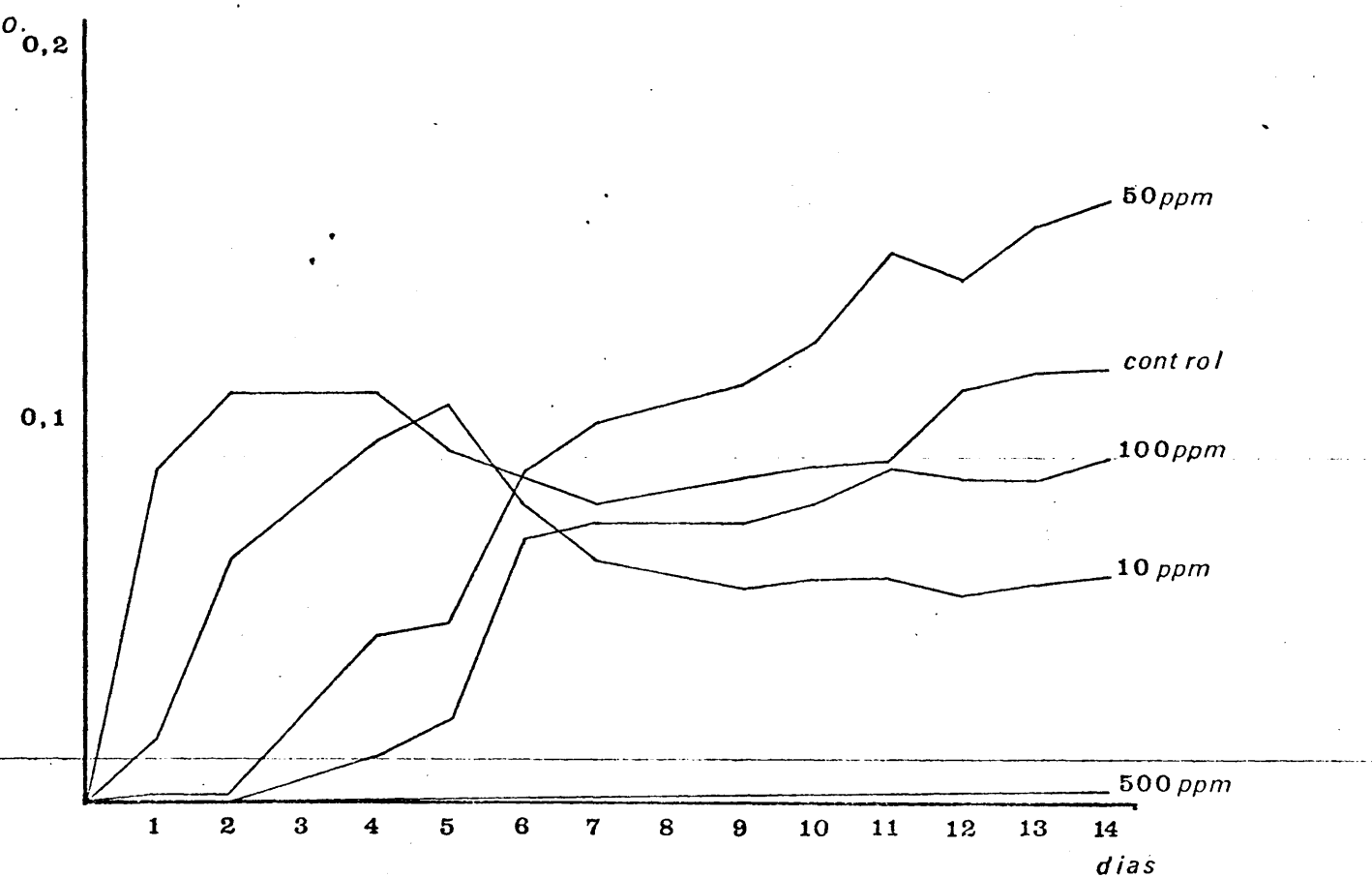


Fig. 21.- Influencia del Sodio Dodecil Sulfato en el crecimiento de *Micrococcus ureae* (M62)

Tabla nº XXI: Grado de tolerancia de la estirpe A2 frente a distintas dosis del tensoactivo  
FENOPON T 77

días	0h	16h	1	2	3	4	5	6	14
ppm									
Control	Q001	Q04	Q06	Q12	Q13	Q125	Q12	Q115	Q12
	Q001	Q035	Q06	Q115	Q13	Q12	Q12	Q12	Q11
	Q001	Q045	Q055	Q12	Q13	Q125	Q12	Q125	Q12
10	Q001	Q005	Q03	Q05	Q1	Q1	Q105	Q09	Q095
	Q001	Q01	Q05	Q07	Q12	Q11	Q105	Q1	Q095
	Q001	Q01	Q04	Q06	Q11	Q1	Q105	Q095	Q095
50	Q001	Q005	Q015	Q015	Q02	Q035	Q055	Q065	Q06
	Q001	Q005	Q02	Q015	Q025	Q04	Q06	Q075	Q06
	Q001	Q005	Q02	Q02	Q03	Q045	Q065	Q08	Q06
100	Q001	Q01	Q02	Q01	Q01	Q01	Q01	Q015	Q015
	Q001	Q015	Q02	Q005	Q01	Q01	Q01	Q015	Q025
	Q001	Q005	Q02	Q005	Q015	Q015	Q02	Q02	Q025
500	Q001	Q03	Q03	Q01	Q005	Q005	Q005	Q005	Q005
	Q001	Q025	Q03	Q01	Q005	Q005	Q005	Q005	Q005
	Q001	Q035	Q03	Q01	Q01	Q01	Q01	Q01	Q01
1000	Q001	Q015	Q025	Q015	Q02	Q02	Q02	Q045	Q05
	Q001	Q02	Q035	Q015	Q025	Q02	Q035	Q045	Q05
	Q001	Q01	Q03	Q01	Q02	Q02	Q03	Q05	Q05
5000	Q001	Q01	Q015	Q005	Q01	Q01	Q01	Q01	Q02
	Q001	Q01	Q02	Q015	Q01	Q01	Q01	Q015	Q025
	Q001	Q01	Q02	Q01	Q01	Q01	Q01	Q015	Q02
10.000	Q001	Q002	Q015	Q01	Q015	Q015	Q015	Q015	Q015
	Q001	Q002	Q025	Q02	Q02	Q02	Q02	Q02	Q02
	Q001	Q002	Q02	Q01	Q02	Q02	Q02	Q02	Q02

[illegible]

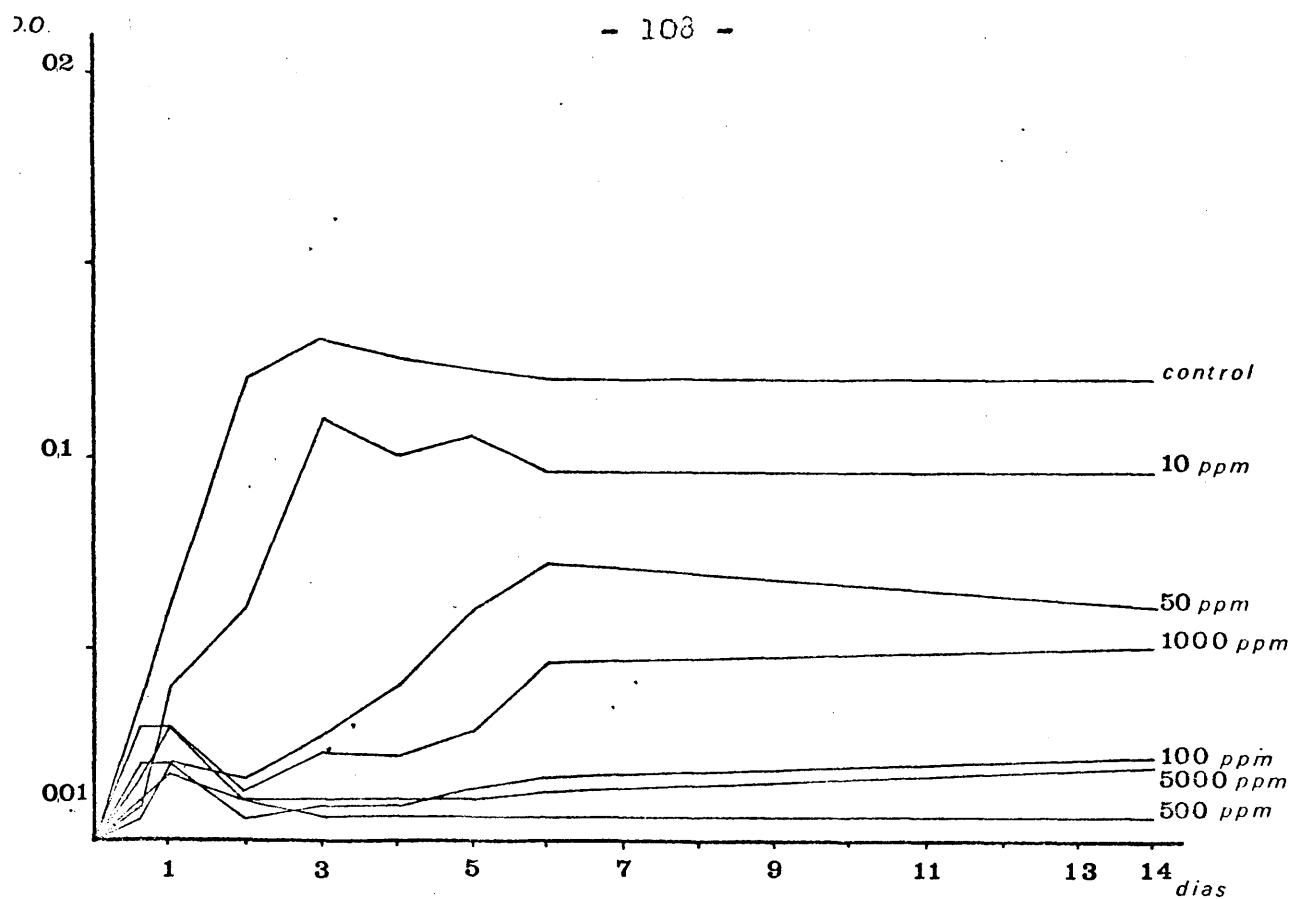


Fig. 22.- Influencia del Fenopon T77 en el crecimiento de *B. laterosporus* (A 2)

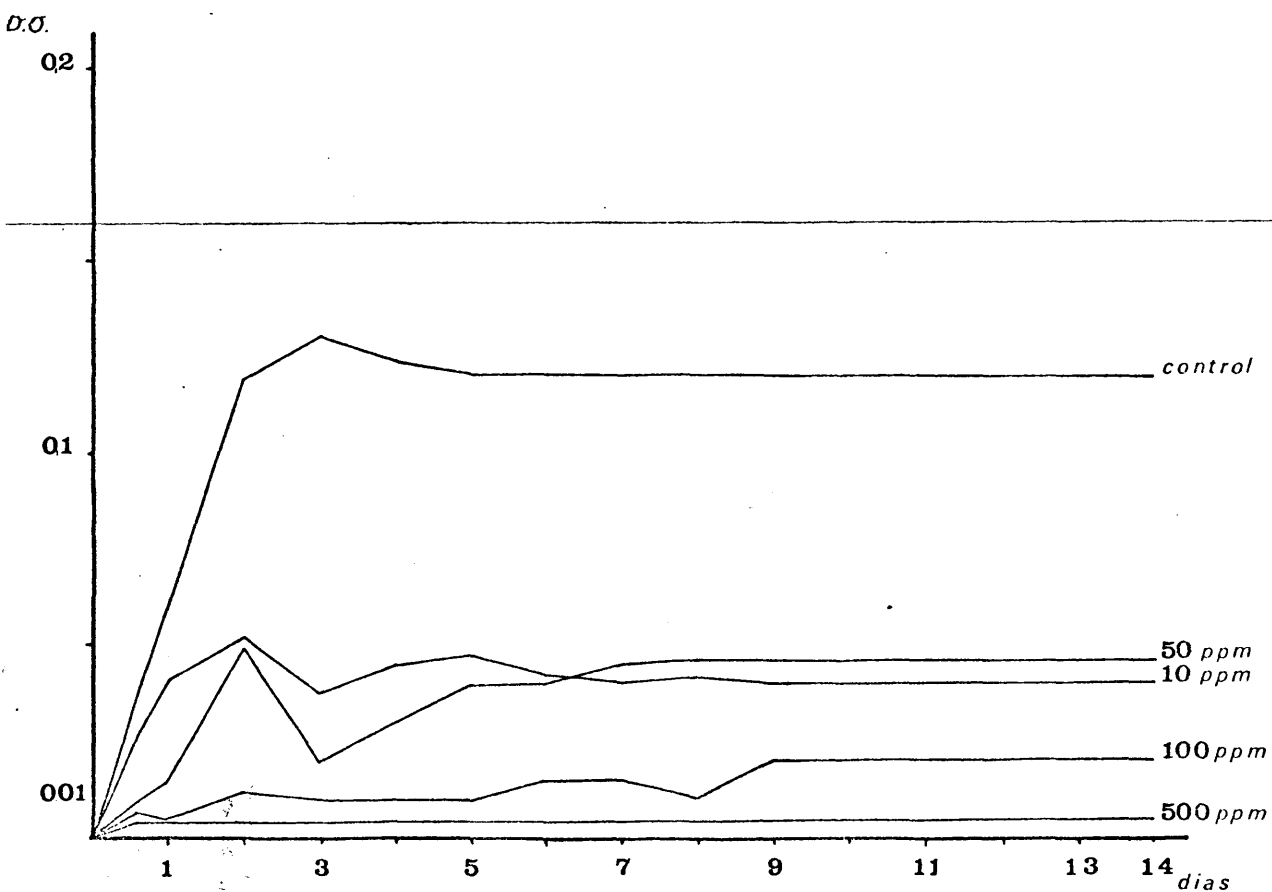


Fig. 23.- Influencia del Sodio Dodecil Sulfato en el crecimiento de *B. laterosporus*

Tabla nº XXIII: Grado de tolerancia de la estirpe M4. frente a distintas dosis del tensoactivo FENOPON T 77

[illegible]

[illegible]



[illegible]

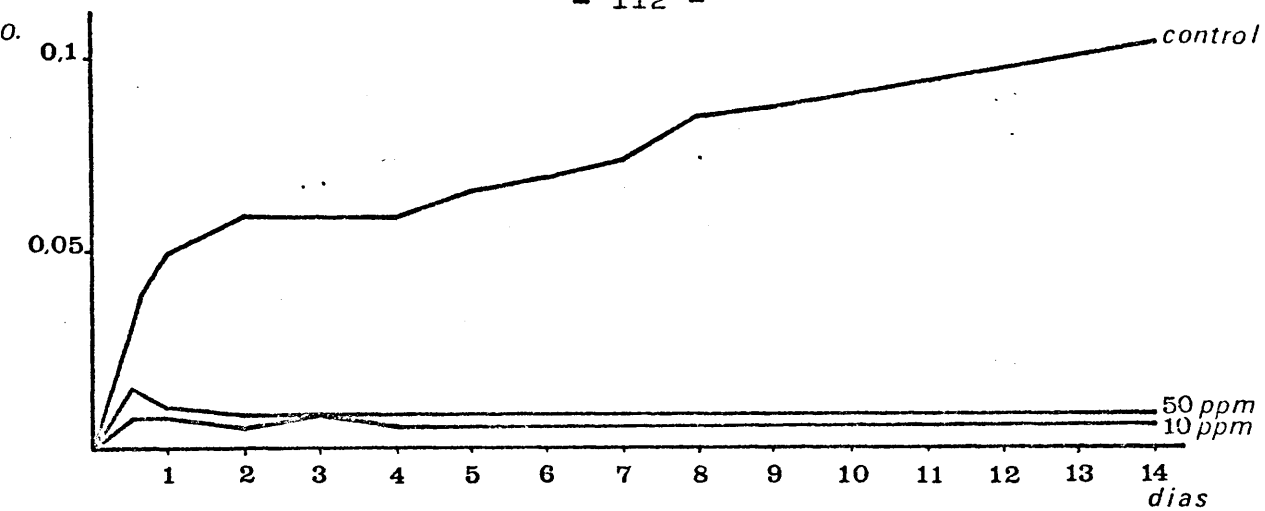


Fig.24.- Influencia del Fenopon T 77 en el crecimiento de *B. pasteurii* (M4)

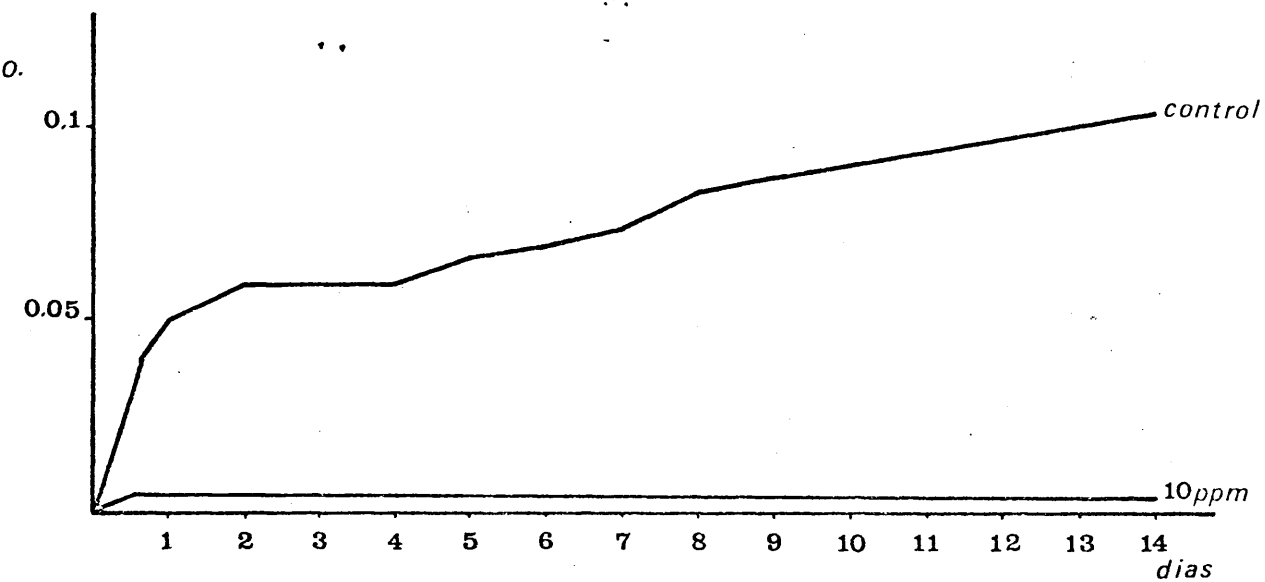


Fig.25.- Influencia del Sodio Dodecil Sulfato en el crecimiento de *B. pasteurii* (M4)

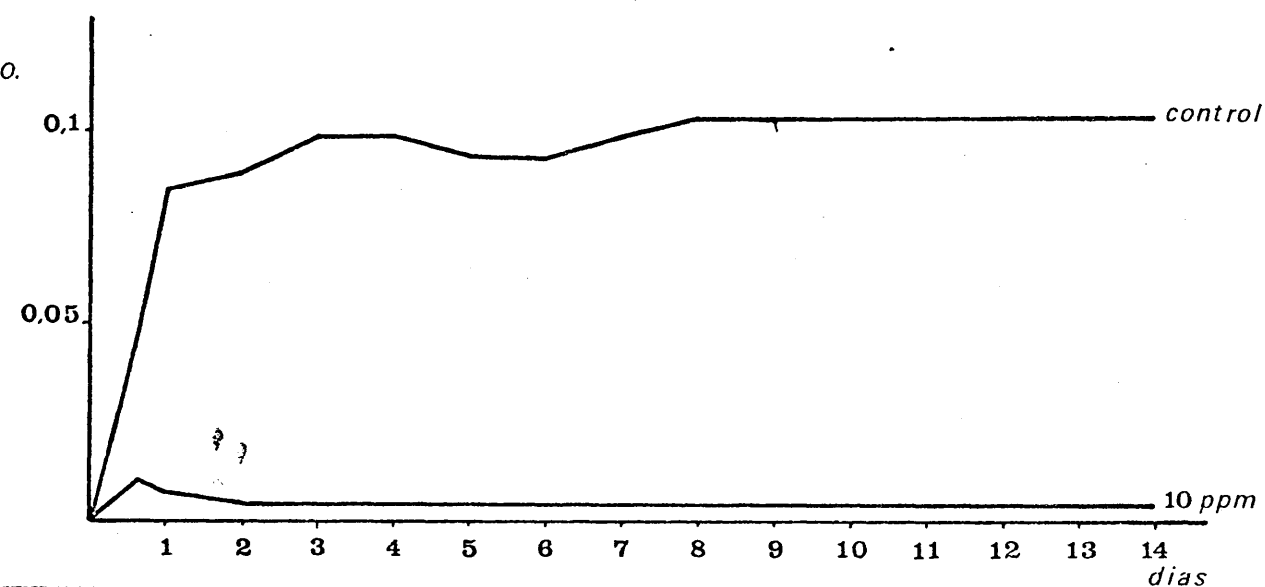


Fig.26.- Influencia del Fenopon T 77 en el crecimiento de *B. sphaericus* (M7S)

[illegible]



[illegible]

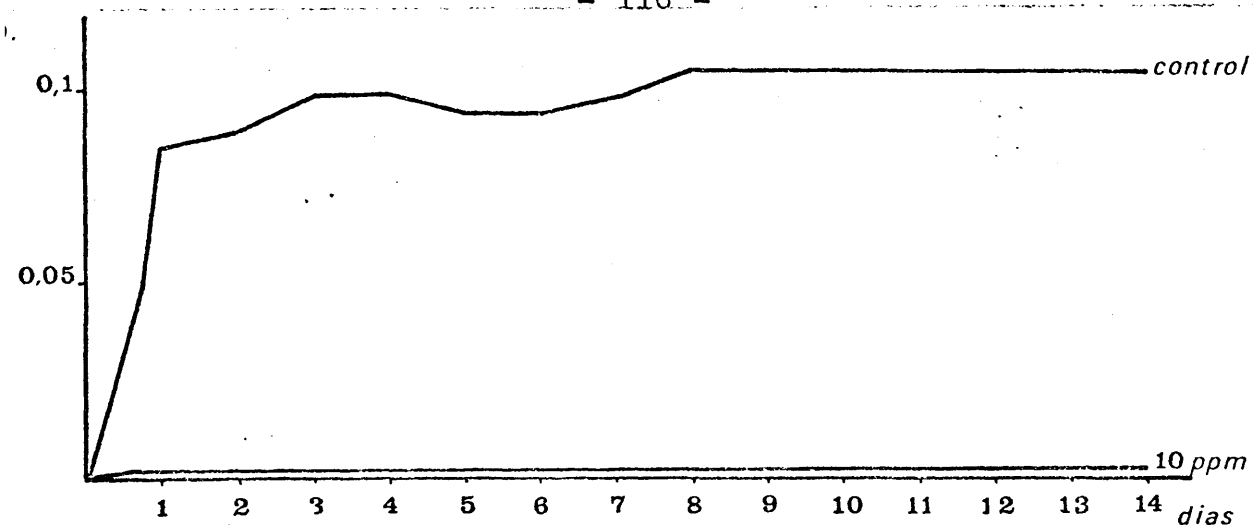


Fig.27.- Influencia del Sodio Dodecil Sulfato en el crecimiento de *B. sphaericus* (M7S)

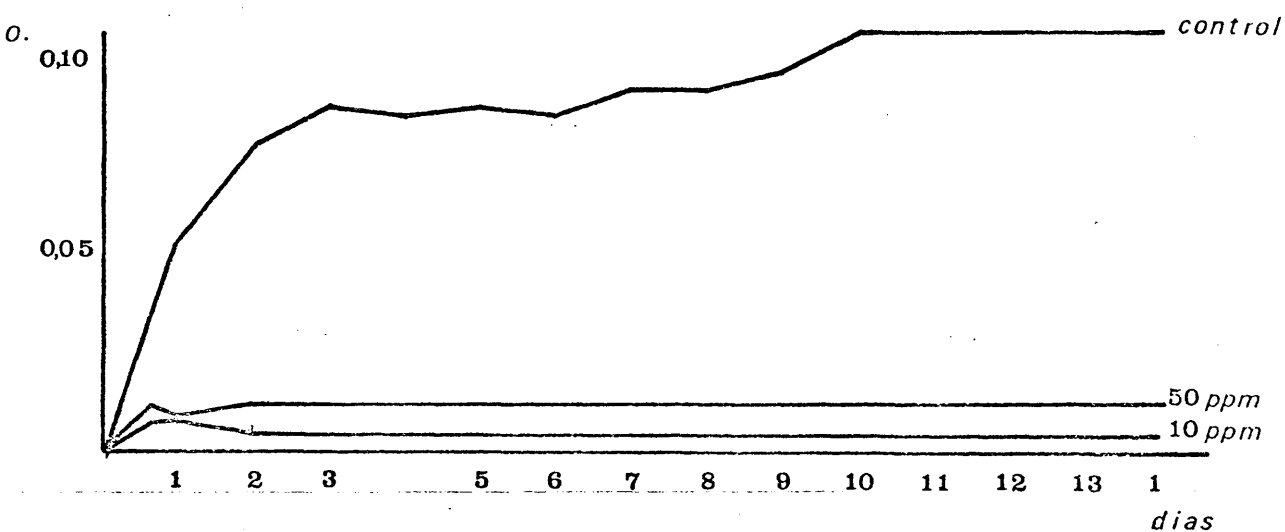


Fig. 28.- Influencia del Fenopon T 77 en el crecimiento de *Bacillus* s.p. (M12S)

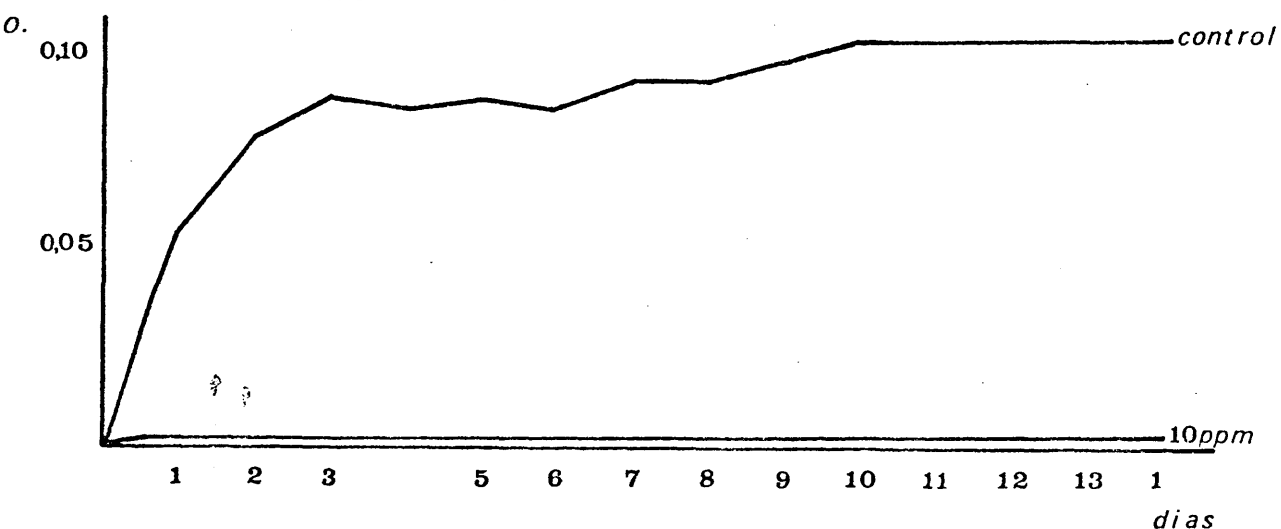


Fig.29.- Influencia del Sodio Dodecil Sulfato en el crecimiento de *Bacillus* s.p.

Tabla nº XXIX: Grado de tolerancia de la estirpe A4 frente a distintas dosis del tensoactivo FENOPON T 77

[illegible]

Tabla nº XXX: Grado de tolerancia de la estirpe A4 frente a distintas dosis del tensoractivo SC010 UCODECIL SULFATO

[illegible]



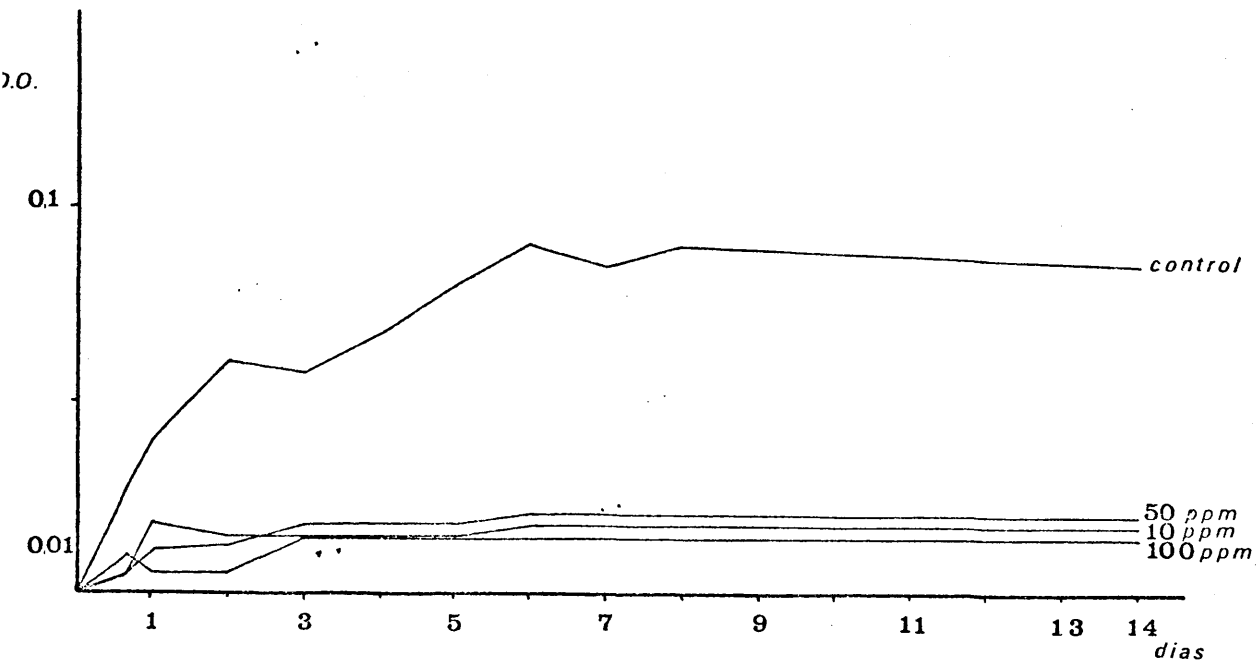


Fig. 30.- Influencia del Fenopon T 77 en el crecimiento de *B. brevis* (A 4)

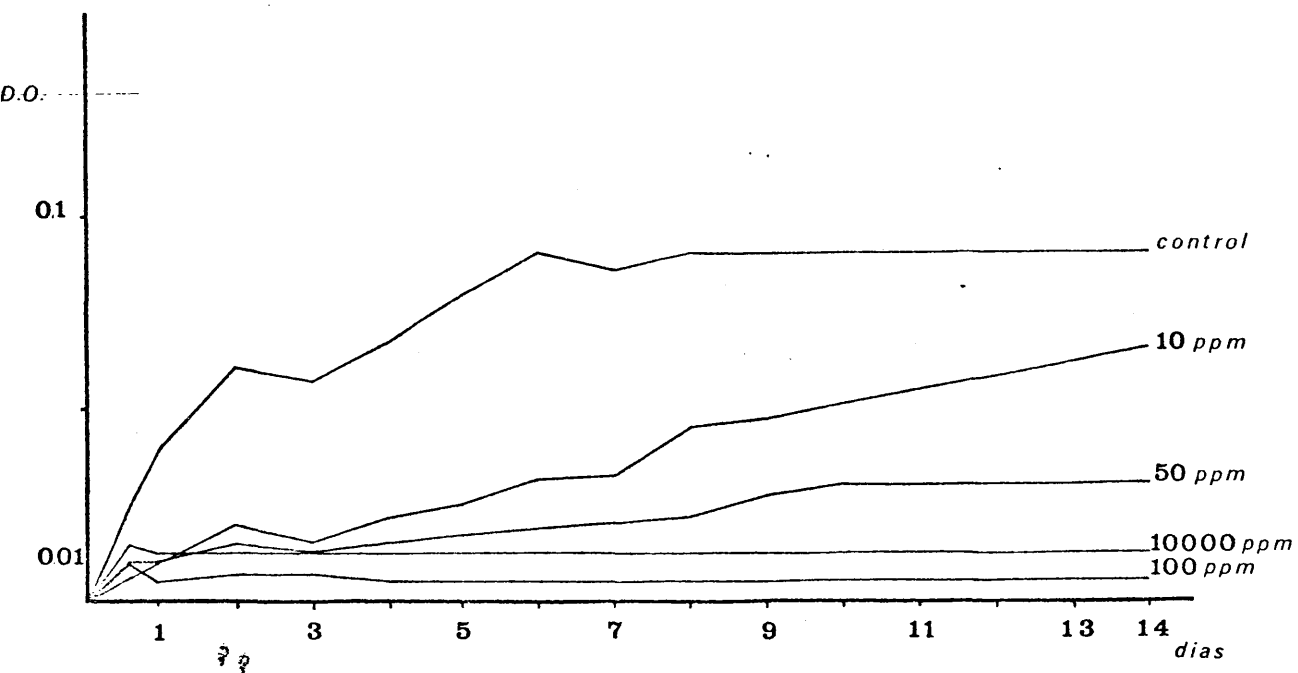


Fig. 31.- Influencia del Sodio Dodecil Sulfato en el crecimiento de *B. brevis* (A4)

días	0h	16h	1	2	3	4	5	13	14
ppm									
Control	0001 003	0001 004	015 018	019 019	021 021	023 023	023 023	0235 0235	023 023
	0001 002	0001 003	012 017	019 019	021 021	023 023	023 023	0235 0235	023 023
10	0001 0035	0001 003	0055 0055	01 01	011 011	015 015	015 015	0105 0105	01 01
	0001 003	0001 003	005 005	0055 0055	0105 0105	0095 0095	0095 0095	01 01	01 01
	0001 003	0001 003	005 005	0055 0055	011 011	01 01	01 01	01 01	01 01
50	0001 002	0001 002	0035 003	003 003	0055 0055	0055 0055	0055 0055	0065 0065	0065 0065
	0001 002	0001 002	003 003	003 003	0055 0055	0055 0055	0055 0055	0065 0065	0065 0065
	0001 002	0001 002	003 003	003 003	0055 0055	0055 0055	0055 0055	0065 0065	0065 0065
100	0001 003	0001 004	004 004	004 004	0065 0065	0065 0065	0065 0065	0065 0065	0065 0065
	0001 003	0001 003	004 004	004 004	0065 0065	0065 0065	0065 0065	0065 0065	0065 0065
	0001 001	0001 001	0015 0015	0015 0015	003 003	003 003	003 003	0035 0035	0035 0035
500	0001 001	0001 001	0015 0015	0015 0015	002 002	0025 0025	0025 0025	0035 0035	0035 0035
	0001 001	0001 001	0015 0015	0015 0015	002 002	0025 0025	0025 0025	0035 0035	0035 0035
1000	0001 001	0001 001	002 002	002 002	002 002	002 002	002 002	002 002	002 002
	0001 001	0001 001	002 002	002 002	002 002	002 002	002 002	002 002	002 002
	0001 001	0001 001	002 002	002 002	002 002	002 002	002 002	002 002	002 002
5000	0001 002	0001 0015	003 0025	0025 0025	0025 0025	003 003	0035 0035	004 004	0045 0045
	0001 002	0001 0015	003 0025	0025 0025	0025 0025	003 003	0035 0035	004 004	0045 0045
	0001 002	0001 0015	003 0025	0025 0025	0025 0025	003 003	0035 0035	004 004	0045 0045
10000	0001 002	0001 0025	0035 003	003 003	0035 0035	004 004	0045 0045	005 005	0055 0055
	0001 0025	0001 0025	0045 003	003 003	0045 0045	005 005	005 005	006 006	0065 0065
	0001 0025	0001 0025	0035 003	003 003	0045 0045	005 005	005 005	006 006	0065 0065

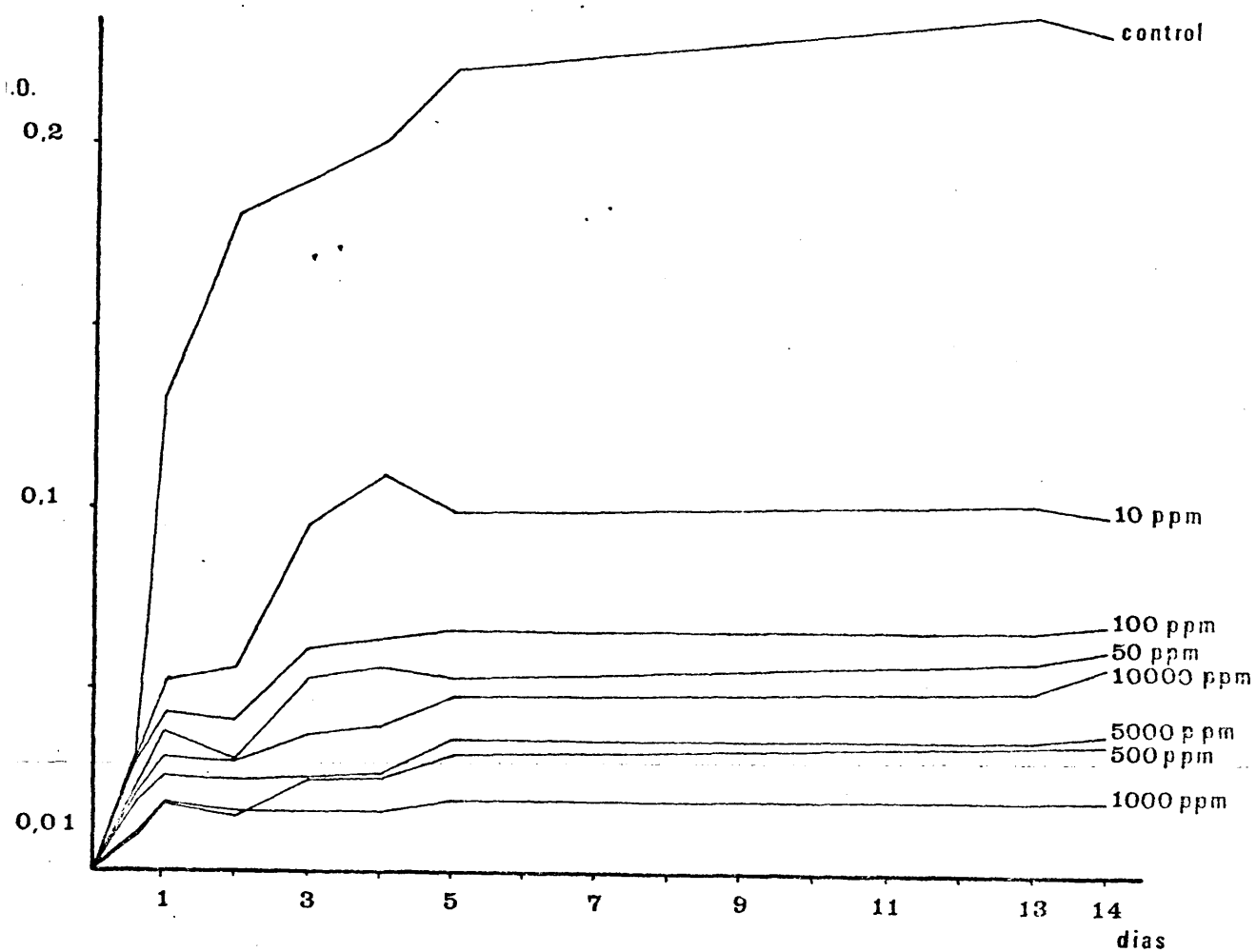


Fig. 32.- Influencia del Fenopon T 77 en el crecimiento de *Alcaligenes fecalis* (C1)

[illegible]

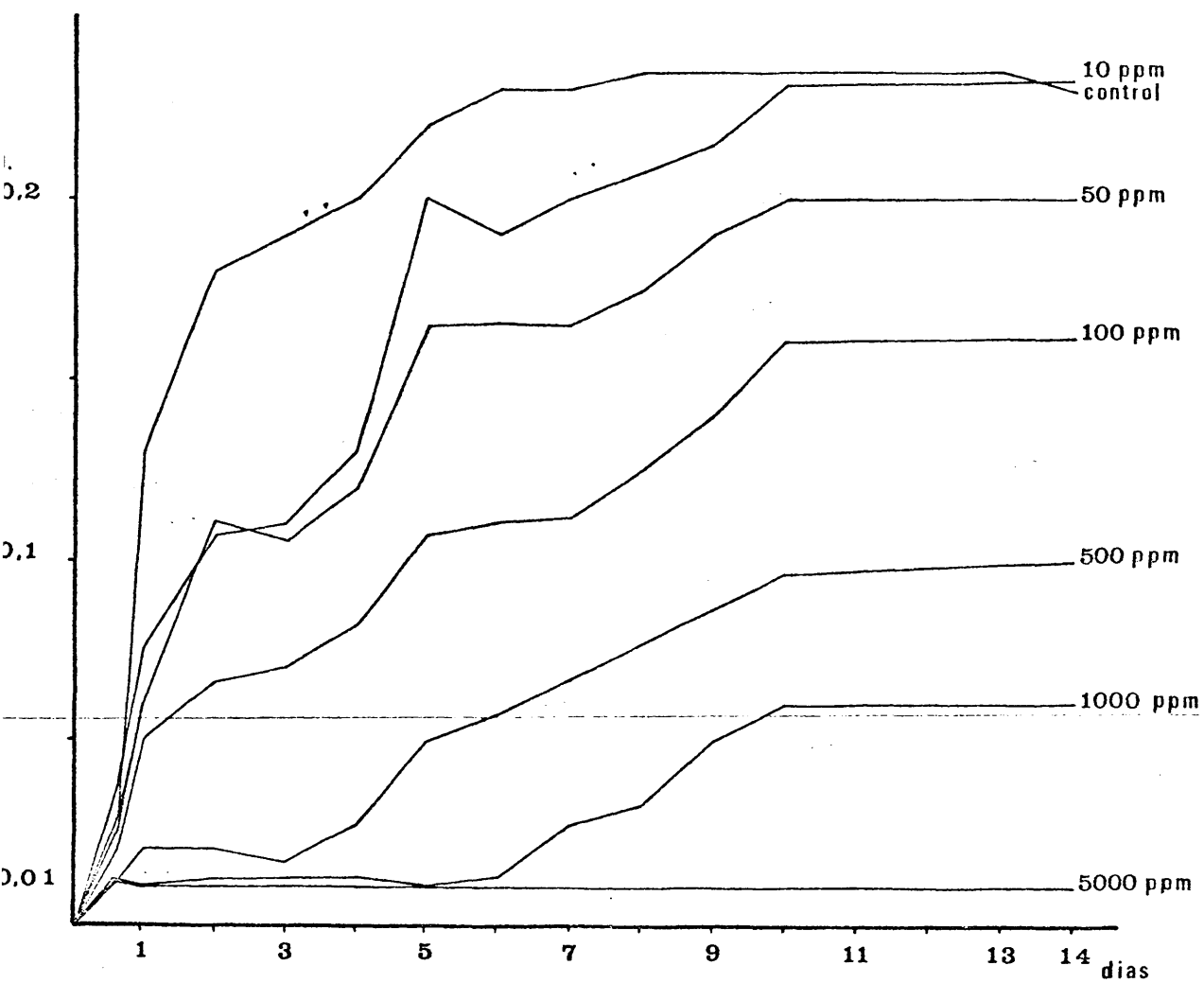


Fig. 33.- Influencia del Sodio Dodecil Sulfato en el crecimiento de *Alcaligenes fecalis* (C1)



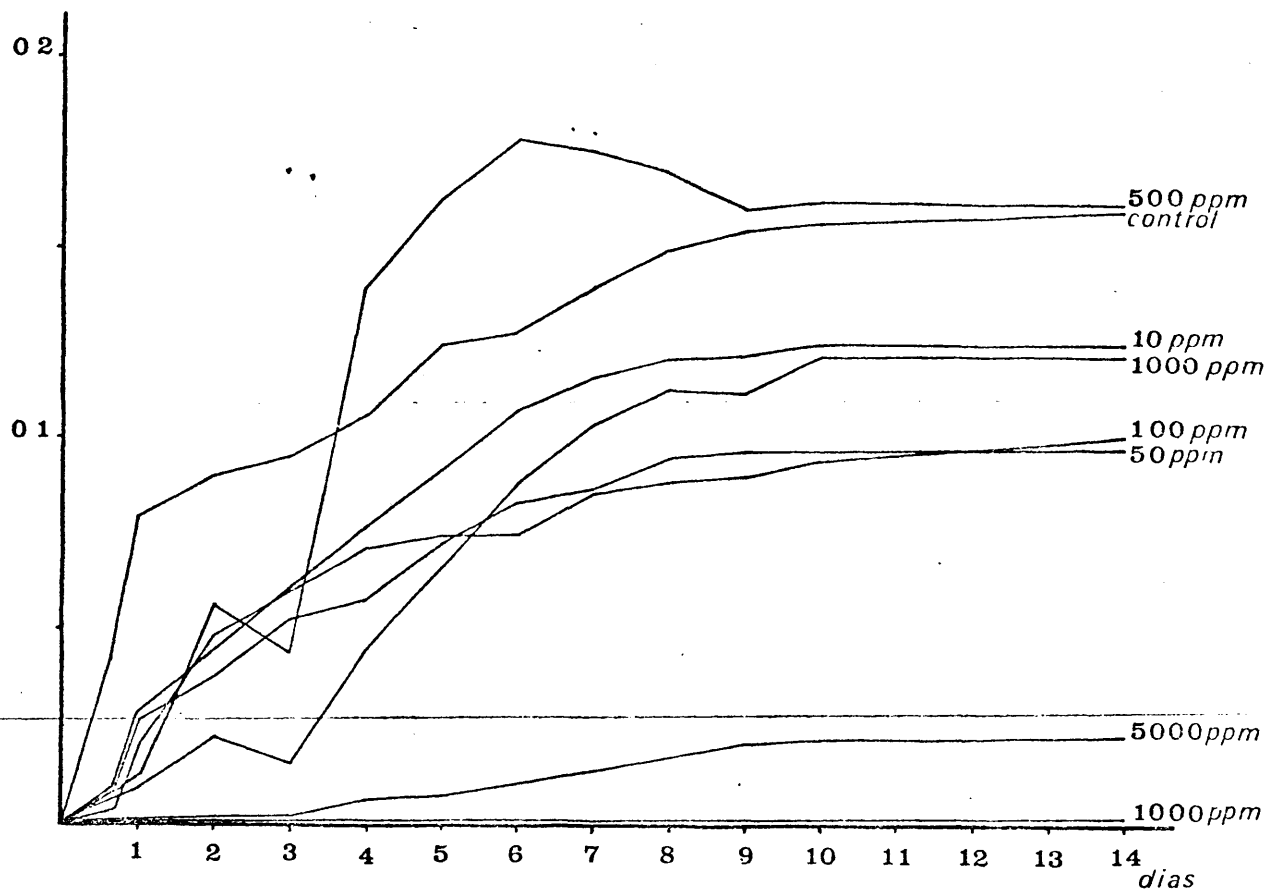


Fig. 36.- Influencia del Fenopon T 77 en el crecimiento de *Ps. putida* (M22)

[illegible]



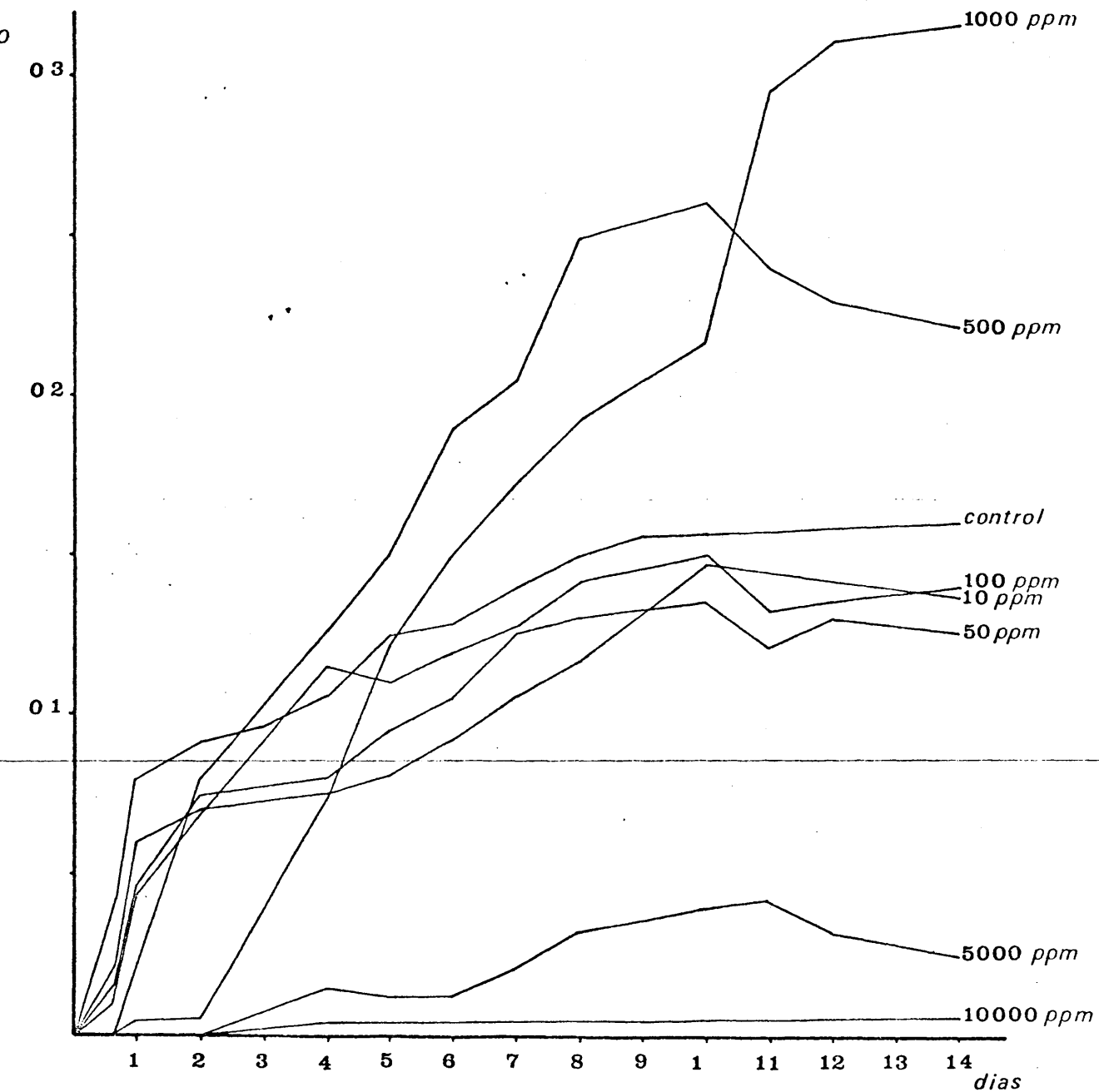


Fig. 37.- Influencia del Sodio Dodecil Sulfato en el crecimiento de *Ps. putida* (M22)

11  
12  
13

Tabla nº XXXVII: Grado de tolerancia de la estirpe M23 frente a distintas dosis del tensoactivo FENOPON T 77

días	0h	16h	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14
ppm															
Control	Q001	Q18	Q3	Q34	Q37	Q42	Q42	Q43	Q48	Q475	Q48	Q47	Q475	Q48	Q48
	Q001	Q18	Q3	Q35	Q38	Q42	Q42	Q43	Q48	Q475	Q48	Q47	Q475	Q47	Q47
	Q001	Q21	Q33	Q39	Q39	Q45	Q45	Q46	Q495	Q49	Q495	Q485	Q49	Q49	Q485
10	Q001	Q1	Q115	Q135	Q175	Q22	Q23	Q23	Q25	Q255	Q265	Q27	Q275	Q27	Q27
	Q001	Q05	Q11	Q13	Q175	Q22	Q23	Q235	Q25	Q27	Q28	Q28	Q28	Q28	Q28
	Q001	Q15	Q12	Q14	Q19	Q24	Q26	Q26	Q27	Q275	Q295	Q29	Q29	Q29	Q29
50	Q001	Q37	Q38	Q385	Q395	Q13	Q14	Q155	Q16	Q18	Q195	Q19	Q2	Q205	Q205
	Q001	Q075	Q38	Q1	Q14	Q15	Q165	Q175	Q185	Q195	Q21	Q21	Q22	Q22	Q21
	Q001	Q07	Q38	Q39	Q125	Q13	Q14	Q155	Q16	Q18	Q195	Q19	Q2	Q2	Q2
100	Q001	Q075	Q385	Q395	Q125	Q135	Q145	Q155	Q17	Q18	Q195	Q185	Q195	Q19	Q195
	Q001	Q035	Q39	Q1	Q145	Q15	Q16	Q17	Q185	Q195	Q2	Q195	Q21	Q2	Q2
	Q001	Q08	Q385	Q39	Q12	Q14	Q15	Q16	Q175	Q185	Q195	Q19	Q2	Q195	Q2
500	Q001	Q33	Q35	Q35	Q375	Q37	Q375	Q37	Q37	Q375	Q395	Q375	Q38	Q38	Q38
	Q001	Q05	Q37	Q36	Q385	Q375	Q395	Q38	Q38	Q38	Q185	Q395	Q39	Q39	Q39
	Q001	Q03	Q345	Q345	Q37	Q37	Q37	Q365	Q355	Q37	Q39	Q37	Q37	Q375	Q37
	Q001	Q03	Q34	Q34	Q36	Q35	Q35	Q35	Q355	Q355	Q36	Q36	Q36	Q36	Q36
1000	Q001	Q045	Q345	Q345	Q385	Q375	Q36	Q36	Q36	Q36	Q38	Q38	Q37	Q37	Q37
	Q001	Q03	Q34	Q34	Q365	Q355	Q355	Q355	Q355	Q355	Q37	Q37	Q365	Q365	Q365
	Q001	Q025	Q33	Q32	Q33	Q33	Q33	Q325	Q33	Q325	Q335	Q33	Q33	Q33	Q335
5000	Q001	Q33	Q335	Q335	Q345	Q345	Q33	Q33	Q34	Q335	Q34	Q34	Q335	Q34	Q34
	Q001	Q335	Q33	Q32	Q33	Q33	Q33	Q325	Q325	Q33	Q335	Q335	Q33	Q335	Q335
	Q001	Q32	Q32	Q32	Q32	Q32	Q32	Q32	Q325	Q325	Q33	Q325	Q325	Q325	Q32
10.000	Q001	Q335	Q34	Q325	Q325	Q33	Q32	Q32	Q33	Q34	Q345	Q34	Q34	Q34	Q34
	Q001	Q32	Q33	Q32	Q32	Q325	Q32	Q32	Q32	Q325	Q33	Q325	Q325	Q325	Q33

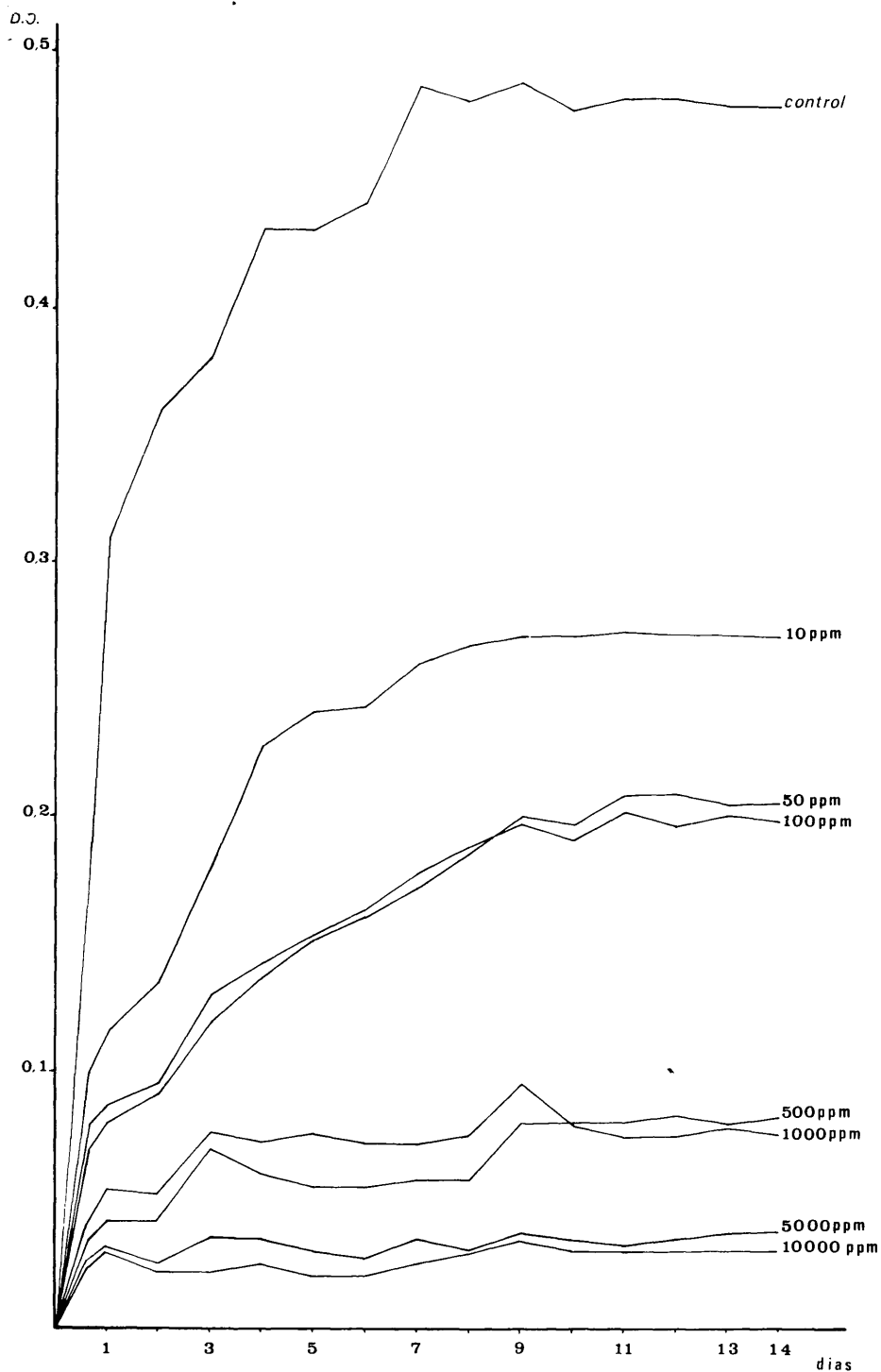


Fig. 38.- Influencia del Fenopon T 77 en el crecimiento de *E. intermedia* (M23)

días	0h	16h	1	2	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14
Control	0001	018	03	034	042	042	043	048	0475	048	047	047	047	047
	0001	018	031	035	042	042	043	048	0475	0485	047	048	048	048
	0001	021	032	039	045	045	046	0495	049	049	0485	049	049	0485
10	0001	0085	018	026	0265	029	03	0315	035	0345	035	0345	036	036
	0001	009	019	027	028	0315	032	034	037	037	038	037	039	039
	0001	0085	0185	0265	0265	03	031	032	035	035	0355	035	036	035
	0001	0075	0085	0105	011	0125	014	016	0205	021	022	02	019	02
50	0001	0075	0085	0105	011	013	014	016	021	021	022	02	0195	021
	0001	009	009	012	013	014	017	018	022	0225	025	0205	0205	022
100	0001	007	0075	008	009	012	011	014	016	016	016	015	0145	0155
	0001	0085	008	0095	0095	014	013	016	018	018	018	017	017	018
	0001	007	007	009	0095	012	012	015	016	016	016	016	015	016
500	0001	003	003	0035	0035	0045	0045	006	0075	007	007	0065	006	006
	0001	004	004	004	004	007	007	0075	01	01	01	009	009	0075
	0001	0035	0035	0035	003	004	0045	006	007	007	007	006	006	006
1000	0001	003	002	0025	0025	003	0035	004	005	004	004	004	004	004
	0001	003	0025	0025	003	004	0035	004	0055	004	004	0045	0045	0045
	0001	003	002	003	0035	003	004	0055	008	007	007	005	005	005
5000	0001	001	0005	001	0015	002	0025	001	0025	002	002	0015	001	001
	0001	001	0005	001	0015	002	0025	001	0025	002	002	0015	0015	0015
	0001	001	0001	0015	0015	005	004	0025	003	0025	0025	002	002	002
10000	0001	0005	0005	001	001	0015	003	0025	003	002	002	0015	0015	0015
	0001	0005	0005	001	0005	001	0015	0015	0015	0015	0015	001	001	001
	0001	0005	0005	001	001	001	0015	0015	0015	0015	001	001	001	001

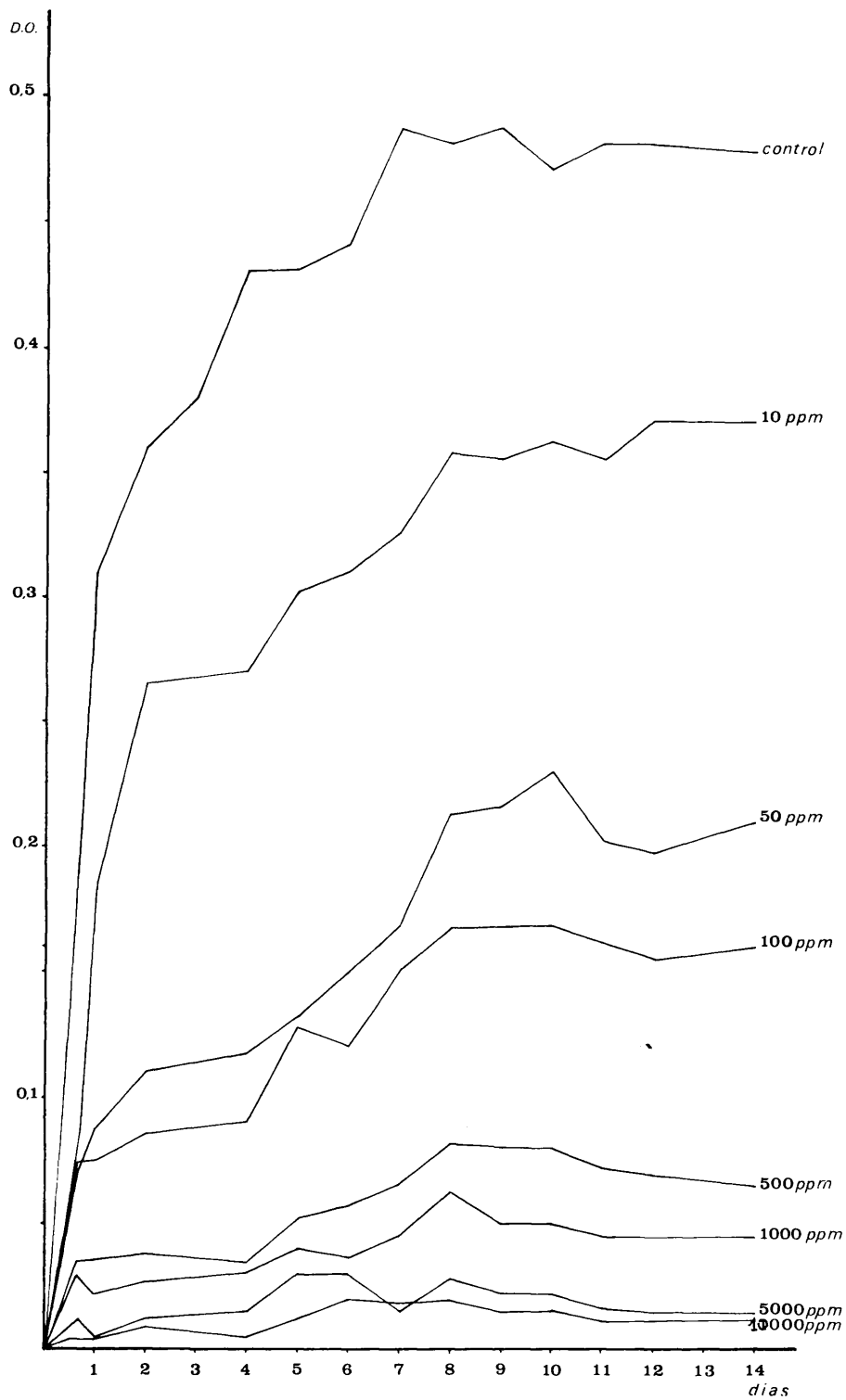


Fig. 39.- Influencia del Sodio Dodecil Sulfato en el crecimiento de *E. intermedia* (M23)

Tabla nº XXXIX: Grado de tolerancia de la estirpe M63 frente a distintas dosis del tensoactivo FENOPON T 77

días	0h	16h	1	2	4	5	6	7	8	10	11	12	13	14
ppm														
Control	Q001 Q2	Q32	Q43	Q43	Q43	Q45	Q47	Q49	Q51	Q5	Q51	Q51	Q51	Q51
	Q001 Q25	Q45	Q48	Q48	Q48	Q5	Q52	Q54	Q55	Q5	Q55	Q55	Q55	Q55
	Q001 Q2	Q31	Q41	Q41	Q41	Q445	Q45	Q47	Q5	Q49	Q5	Q5	Q5	Q5
10	Q001 Q1	Q12	Q195	Q195	Q175	Q2	Q215	Q225	Q27	Q27	Q275	Q26	Q25	Q25
	Q001 Q11	Q17	Q225	Q225	Q22	Q235	Q245	Q27	Q32	Q32	Q32	Q31	Q3	Q3
	Q001 Q105	Q13	Q195	Q195	Q175	Q2	Q215	Q225	Q28	Q27	Q28	Q27	Q25	Q26
50	Q001 Q08	Q1	Q1	Q1	Q095	Q105	Q11	Q125	Q15	Q145	Q145	Q135	Q125	Q125
	Q001 Q09	Q105	Q13	Q13	Q135	Q13	Q14	Q15	Q18	Q175	Q175	Q15	Q15	Q15
	Q001 Q085	Q1	Q1	Q1	Q095	Q1	Q11	Q13	Q15	Q15	Q15	Q14	Q13	Q13
100	Q001 Q075	Q09	Q095	Q095	Q09	Q095	Q1	Q11	Q14	Q135	Q13	Q125	Q12	Q12
	Q001 Q075	Q095	Q1	Q1	Q09	Q1	Q11	Q12	Q14	Q135	Q13	Q125	Q12	Q12
	Q001 Q09	Q1	Q105	Q105	Q095	Q105	Q12	Q13	Q17	Q165	Q15	Q14	Q135	Q125
500	Q001 Q075	Q07	Q065	Q065	Q065	Q06	Q065	Q07	Q08	Q08	Q07	Q065	Q045	Q04
	Q001 Q07	Q065	Q06	Q06	Q06	Q055	Q06	Q065	Q075	Q075	Q065	Q06	Q04	Q035
	Q001 Q07	Q06	Q055	Q055	Q055	Q15	Q06	Q06	Q07	Q07	Q065	Q055	Q035	Q035
1000	Q001 Q08	Q17	Q055	Q055	Q05	Q05	Q055	Q06	Q08	Q07	Q06	Q055	Q05	Q05
	Q001 Q06	Q05	Q05	Q05	Q045	Q045	Q05	Q05	Q06	Q065	Q05	Q05	Q05	Q04
	Q001 Q07	Q06	Q05	Q05	Q045	Q045	Q05	Q055	Q07	Q065	Q055	Q05	Q05	Q045
5000	Q001 Q055	Q045	Q14	Q14	Q04	Q035	Q04	Q05	Q06	Q05	Q04	Q035	Q04	Q035
	Q001 Q05	Q04	Q04	Q04	Q03	Q03	Q035	Q04	Q05	Q04	Q035	Q025	Q03	Q03
	Q001 Q05	Q04	Q04	Q04	Q035	Q03	Q035	Q045	Q055	Q045	Q035	Q03	Q035	Q03
10.000	Q001 Q02	Q02	Q02	Q02	Q01	Q01	Q02	Q015	Q02	Q02	Q02	Q015	Q015	Q015
	Q001 Q015	Q02	Q02	Q02	Q01	Q005	Q01	Q005	Q015	Q01	Q015	Q01	Q01	Q01
	Q001 Q015	Q02	Q02	Q02	Q01	Q005	Q015	Q01	Q015	Q015	Q015	Q01	Q01	Q01

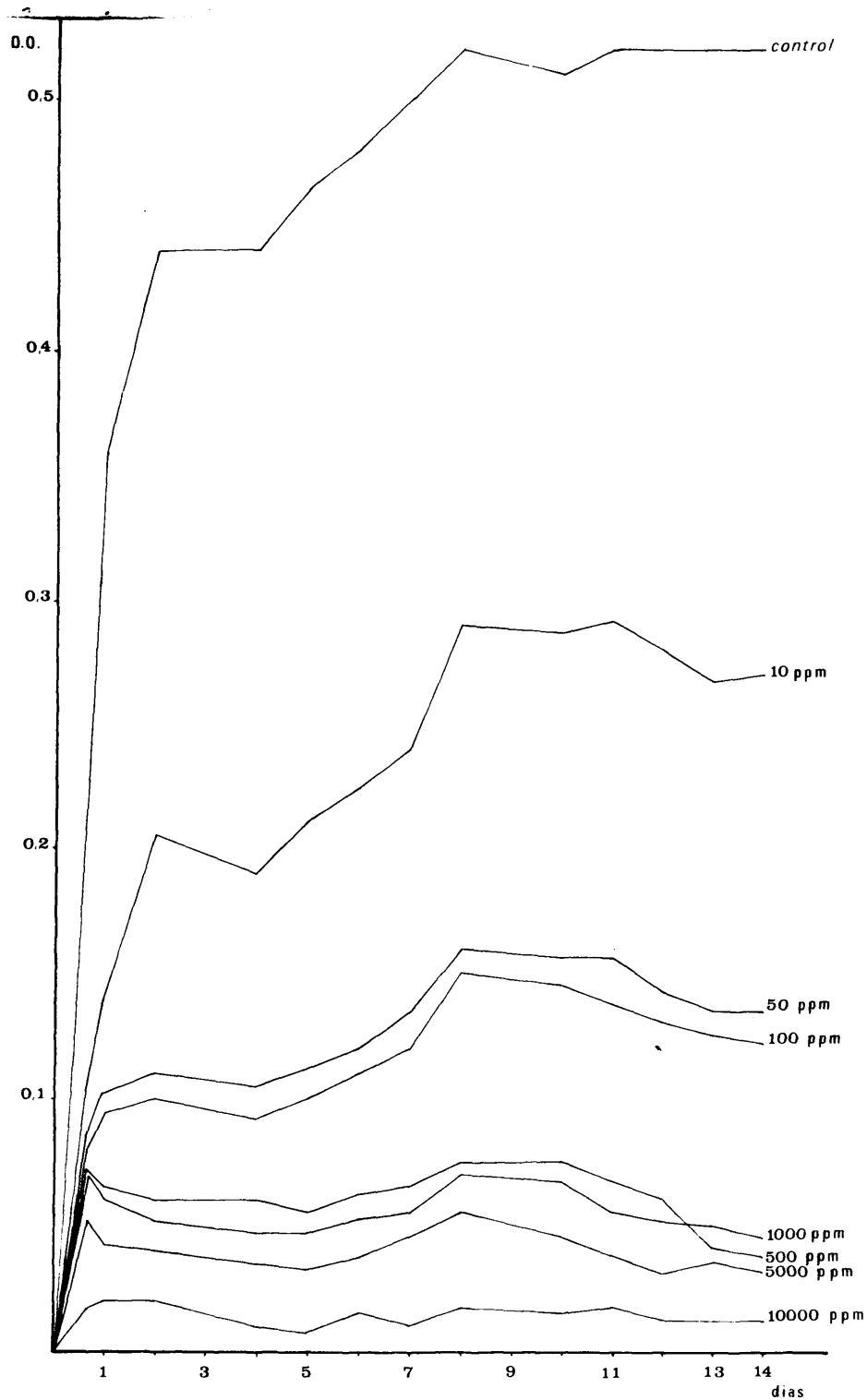


Fig. 40.- Influencia del Fenopon T 77 en el crecimiento de *E. freundii* (M63)

días	0h	16h	1	2	4	5	6	7	8	10	11	12	13	14
ppm														
Control	0001	02	032	043	043	045	047	049	051	05	051	051	051	051
	0001	025	045	048	048	05	052	054	055	054	055	055	055	055
	0001	02	031	041	041	0445	045	047	05	049	05	05	05	05
10	0001	007	033	036	030	04	044	045	046	045	048	0475	0475	048
	0001	006	031	034	036	038	0415	042	043	042	045	045	045	045
	0001	0065	032	035	037	039	042	042	043	042	045	044	044	045
50	0001	005	012	014	010	02	013	017	018	029	03	032	0325	032
	0001	004	0115	013	017	018	0225	024	025	026	028	029	03	0305
	0001	0045	0115	0135	0175	019	0225	024	025	026	028	029	029	0295
100	0001	004	0085	01	013	0135	017	018	018	02	02	02	0205	021
	0001	006	009	0105	0135	014	0175	0185	019	0205	0205	022	0225	0225
	0001	005	0085	01	013	0135	017	018	0185	02	02	021	0215	021
500	0001	004	007	0085	007	0065	009	009	01	01	0095	0105	011	0105
	0001	005	0075	007	0085	0095	0105	0105	0105	0115	011	011	0125	012
	0001	003	007	0065	007	006	009	009	01	01	0095	0105	011	0105
1000	0001	002	004	004	0065	005	0055	006	0055	006	006	007	006	007
	0001	003	0045	0045	007	007	007	0075	007	0075	007	008	0075	0075
	0001	0025	000	004	006	006	006	0065	006	0065	0065	0065	0065	007
5000	0001	003	0025	002	006	0025	0035	004	003	003	003	0035	003	003
	0001	003	0025	0015	002	0015	0025	003	003	003	003	003	003	003
	0001	003	003	0025	004	0035	0045	005	005	0055	005	004	0035	003
10.000	0001	001	001	001	0015	001	002	0025	002	003	0025	0025	0025	0025
	0001	001	0015	001	0015	0015	0035	004	004	004	0035	0035	0035	0035
	0001	001	001	001	0015	001	002	0025	002	002	0015	002	002	002



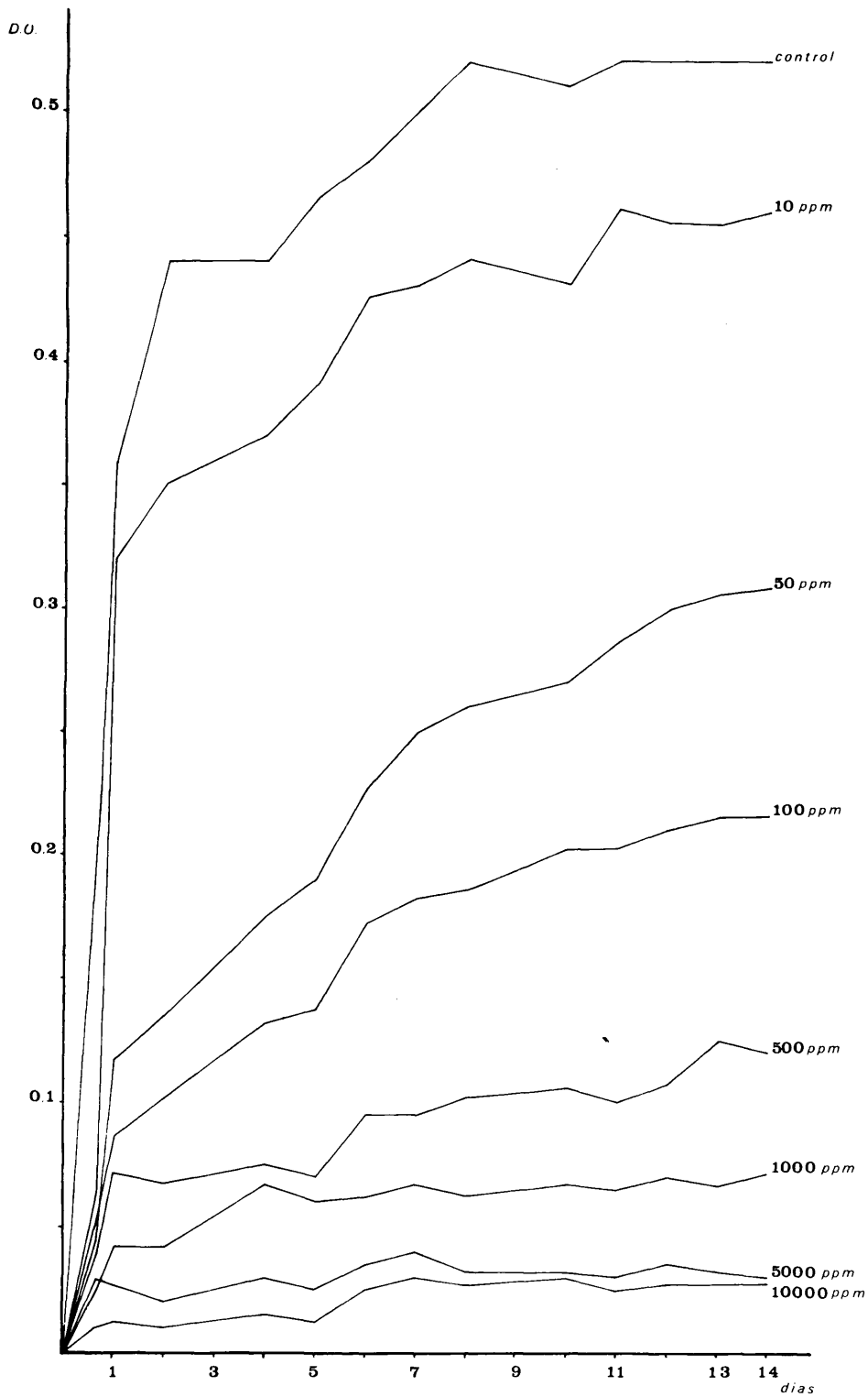


Fig. 41.- Influencia del Sodio Dodecil Sulfato en el crecimiento de *E. freundii* (M63)

### Interpretación de resultados.

En los resultados obtenidos de la influencia de dos tensoactivos aniónicos, Fenopon T 77 y Sodio Dodecil Sulfato, sobre una serie de estirpes bacterianas aisladas del lodo nos encontramos con algunos casos en que existe una reducción progresiva de la densidad celular de los cultivos a medida que se aumenta la dosis del producto ensayado, otras estirpes para las que aún las dosis más bajas muestran una acción bacteriostática y por último algunos casos en que a determinadas concentraciones parece favorecerse el crecimiento.

Así, Fenopon T 77 ejerce una influencia negativa muy patente al rebajar progresivamente la densidad óptica de los cultivos de *Bacillus pumilus* (estirpe A3), *B. pantothenicus* (estirpe M41), *B. licheniformis* (estirpe C2), *B. laterosporus* (estirpe A2), *Alcaligenes fecalis* (estirpe C1), *Pseudomonas putida* (estirpe M22), *Escherichia intermedia* (estirpe M23) y *Escherichia freundii* (estirpe M63).

El mismo efecto se observa para Sodio Dodecil Sulfato en los cultivos de *B. licheniformis* (C.2), *B. Brevis* (A4), *Alcaligenes fecalis* (C1), *Escherichia intermedia* (M23), y *Escherichia freundii* (M63).

Fenopon T 77 se muestra como un agente bacteriostático a concentración de 10 ppm en los cultivos de *Bacillus s.p.* (estirpe M101), *B. pulvifaciens* (M24), *Brevibacterium erythrogenes* (M21) - *Bacillus pasteurii* (M4), *Bacillus esphaericus* (M7S) y *Bacillus s.p.* (M12S) como de igual forma lo es el Sodio Dodecil Sulfato en la misma dosis para los cultivos de *Brevibacterium erythrogenes* (M21) *Bacillus pasteurii* (M4), *Bacillus esphaericus* (M7S) y *Bacillus s.p.* (M12S), en dosis de 50ppm. para *Bacillus s.p.* (M101), *Bacillus pantothenicus* (M41) y *Bacillus pulvifaciens* (M24 y en 100 ppm. para *Bacillus pumilus* (A3). Ambos tensoactivos, en concentraciones superiores a las citadas mostraron una acción bactericida para estas estirpes, de forma que no sólo impedían su desarrollo sino, que

además, al inocular muestras de estos cultivos en un medio nutritivo común desprovisto de tensoactivo, no se obtuvo crecimiento en ningún caso.

Por último, hemos encontrado, en alguna ocasión y a determinadas concentraciones, se obtienen valores de densidad celular muy superiores a los dados por el control, como ocurre con *Micrococcus ureae* (M62) cuyo crecimiento resulta favorecido con la casi totalidad de las dosis de Fenopon T 77 y con 50ppm. de Sodio Dodecil Sulfato y *Pseudomonas putida* (M22) en que las dosis bajas y altas determinan disminución del valor de la densidad óptica, mientras que en las dosis medias 500 y 1000 ppm. este valor es notablemente más alto que en el control. Sin embargo, la velocidad de multiplicación durante las primeras 24-48 horas es inferior a la de los tubos control, lo que podría interpretarse sobre la base de que cuando se introduce en la nutrición bacteriana una sustancia extraña como fuente de carbono, no se produce un ataque inmediato a la molécula y se detiene la proliferación celular hasta que, después de un cierto período de tiempo, la molécula puede comenzar a ser atacada reproduciéndose las bacterias.

Vemos pues, que en la mayor parte de los casos el efecto de estos dos tensoactivos sobre los cultivos bacterianos es una disminución de la densidad celular, es decir, que inhiben en mayor o menor grado el crecimiento. Stanier, Doudoroff y Adelberg (1965) consideran a las sustancias tensoactivas, como los jabones, detergentes sintéticos y compuestos fenólicos, como ejemplo de agentes bactericidas y bacteriostáticos cuyos efectos tóxicos se atribuyen a su acción química sobre las estructuras celulares, especialmente sobre la membrana celular en cuyos componentes, principalmente proteínas y lípidos se disuelven o se combinan químicamente con ellos y en consecuencia modifican la superficie de la célula y alteran sus funciones esenciales. La membrana celular no sólo preserva la integridad de la célula previniendo la salida de los componentes citoplásmicos al medio, sino que interviene en el trans-

porte activo de los nutrientes hacia su interior. Por consiguiente cualquier agente químico que altere la estructura fisicoquímica de la membrana semipermeable causará una desorganización general en el funcionamiento celular. Cuando se pierden las propiedades selectivas de la membrana, hay salida de algunos de los componentes de la célula tales como aminoácidos, nucleótidos, coenzimas e iones orgánicos y el organismo muere. Shafa y Salton (1960) han estudiado la acción del Sodio Dodecil Sulfato sobre la pared celular de *Salmonella gallinarum* y otras especies gramnegativas observando una disgregación completa de las paredes celulares y sugieren que el mecanismo por el que se produce ese fenómeno comprende una interacción entre el tensoactivo y la parte lipídica, lipoproteica y lipopolisacárida de la pared. Carl A. Schnaitman (1971) ha observado que las proteínas de la membrana citoplásmica de *Escherichia coli* resultan selectivamente solubilizadas por acción de un tensoactivo no iónico, Triton X-100 y C.L. Woldringh y Wouter Van Itersen (1972) tratando *Escherichia coli* con Sodio Dodecil Sulfato han obtenido una disolución de la membrana que varía con la duración del tratamiento llegándose a veces a producir una plasmolisis.

Rose (1968) considera a los alcoholes, fenoles, sales biliares y detergentes de síntesis como compuestos que alteran las funciones fisiológicas de la membrana plasmática de lo que resulta la incapacidad del microorganismo para reproducirse, afirmando además que frecuentemente estos agentes obran destruyendo la barrera osmótica del organismo, hecho que podría servirnos de base para interpretar la formación de protoplastos y esferoplastos en numerosos cultivos con determinadas dosis de tensoactivo. Varios autores han obtenido este tipo de formaciones después de un tratamiento con enzimas, como la lisozima, que hidroliza la sustancia mucocompleja de las paredes bacterianas y hacen que las células se vuelvan osmóticamente sensibles produciéndose la liberación de protoplastos y esferoplastos.

tos que, aunque tienen distinta forma que las células de que derivan, conservan muchas de las funciones fisiológicas celulares. Por otra parte, hemos observado las mismas alteraciones respecto a la movilidad, tinción de Gram y esporulación a que hacemos referencia en el apartado anterior al tratar de la influencia sobre cultivos de microflora total, siendo al parecer la primera la propiedad que se muestra más susceptible a la acción de los tensoactivos, ya que las bacterias típicamente móviles dejan de serlo ya cuando se cultivan en presencia de dosis muy pequeñas ( 10 ppm.) de estos productos. Y de la misma forma, podemos considerar que todas estas alteraciones serían consecuencia por una parte de los complejos que parecen formarse entre tensoactivos y proteínas con la consiguiente modificación de estas últimas, y por otra de cambios en la permeabilidad de la pared bacteriana que harían variar las propiedades de tinción características.

---

VIII. 3.- Influencia sobre algunos procesos del Ciclo del Nitrógeno.-

VIII.3.1. Influencia sobre la Amonificación y Nitrificación.

Se siguió el método descrito en Material y Métodos en el apartado 9. Los resultados se expresan en las Tablas LXI a LXVI y Figuras 42 a 48 para la Amonificación y en las Tablas XLVII y XLVIII y Figuras 49 y 50 para la Nitrificación.

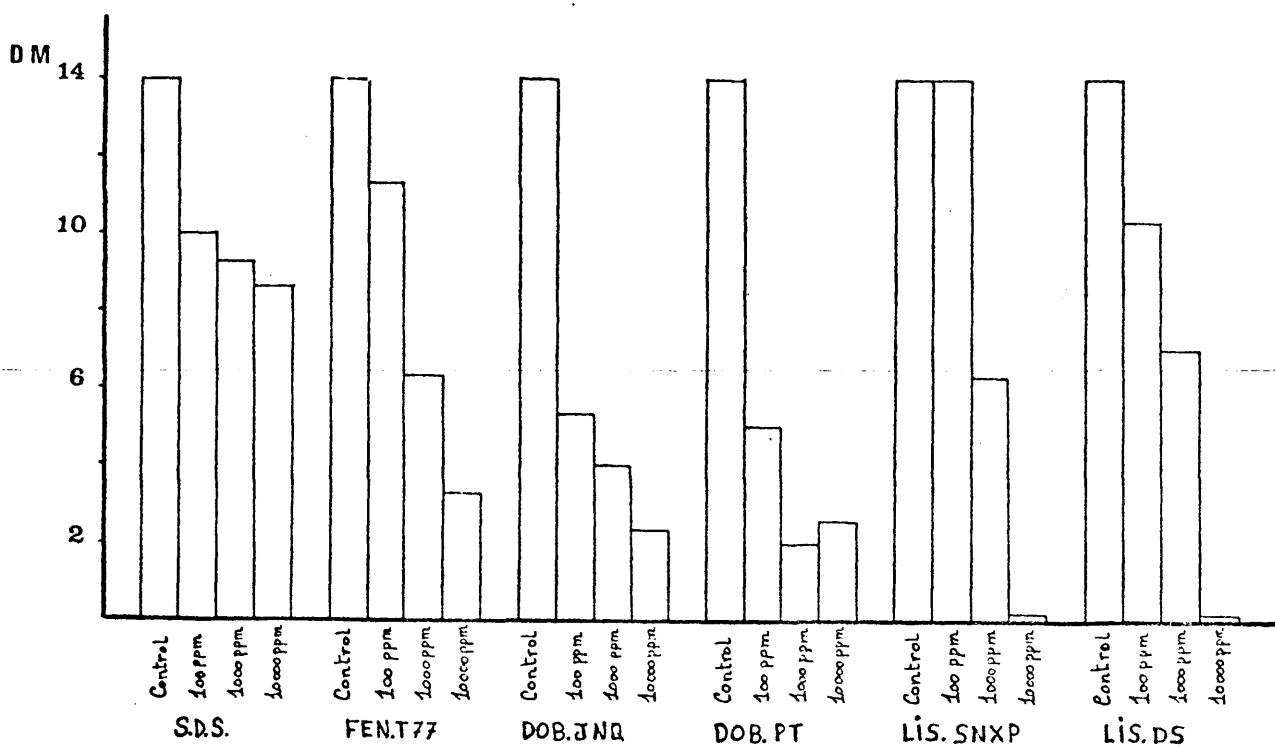


Fig. 42. Influencia de la concentración de tensoactivos sobre los microorganismos amonificantes de 1 gr. de lodo.

Tabla nº. XLI: Influencia del SODIO DODECIL SULFATO sobre la producción de amoníaco por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															D.M.
Control		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	$10^{-11}$	$10^{-12}$	$10^{-13}$	$10^{-14}$	$10^{-15}$	
Días	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	5/3
	2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	10/3
	3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	25/3
	4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	33/3
	5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	34/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	35/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	37/3
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	39/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	42/3

Nº de Mc Crady=300

Nº amonific./gr. de lodo= $2,5 \cdot 10^{14}$

100 ppm		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
Días		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	
Días	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	3/3
	2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	13/3
	3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	15/3
	4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	17/3
	5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	18/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	23/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	24/3
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	24/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	30/3

Nº de Mc Crady=333

Nº amonific./gr. de lodo= $140 \cdot 10^{10}$

1000 m		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
Días		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	11/3
	4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	14/3
	5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	16/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	22/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	24/3
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	24/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	28/3

Nº de Mc Crady=322

Nº amonific./gr. de lodo= $20 \cdot 10^6$

Tabla nº XLI ( continuación)

10.000 ppm	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	+++	+++	+++	+-	+-	---	---	---	---	---	12/3
3	+++	+++	+++	+-	+++	---	---	---	---	---	14/3
4	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	15/3
5	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	15/3
7	+++	+++	+++	+++	+++	+-	---	---	---	---	16/3
9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	24/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	24/3
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	---	26/3
Nº de Mc Crady=320      Nº amonific./gr. de lodo= $9,5 \cdot 10^8$											

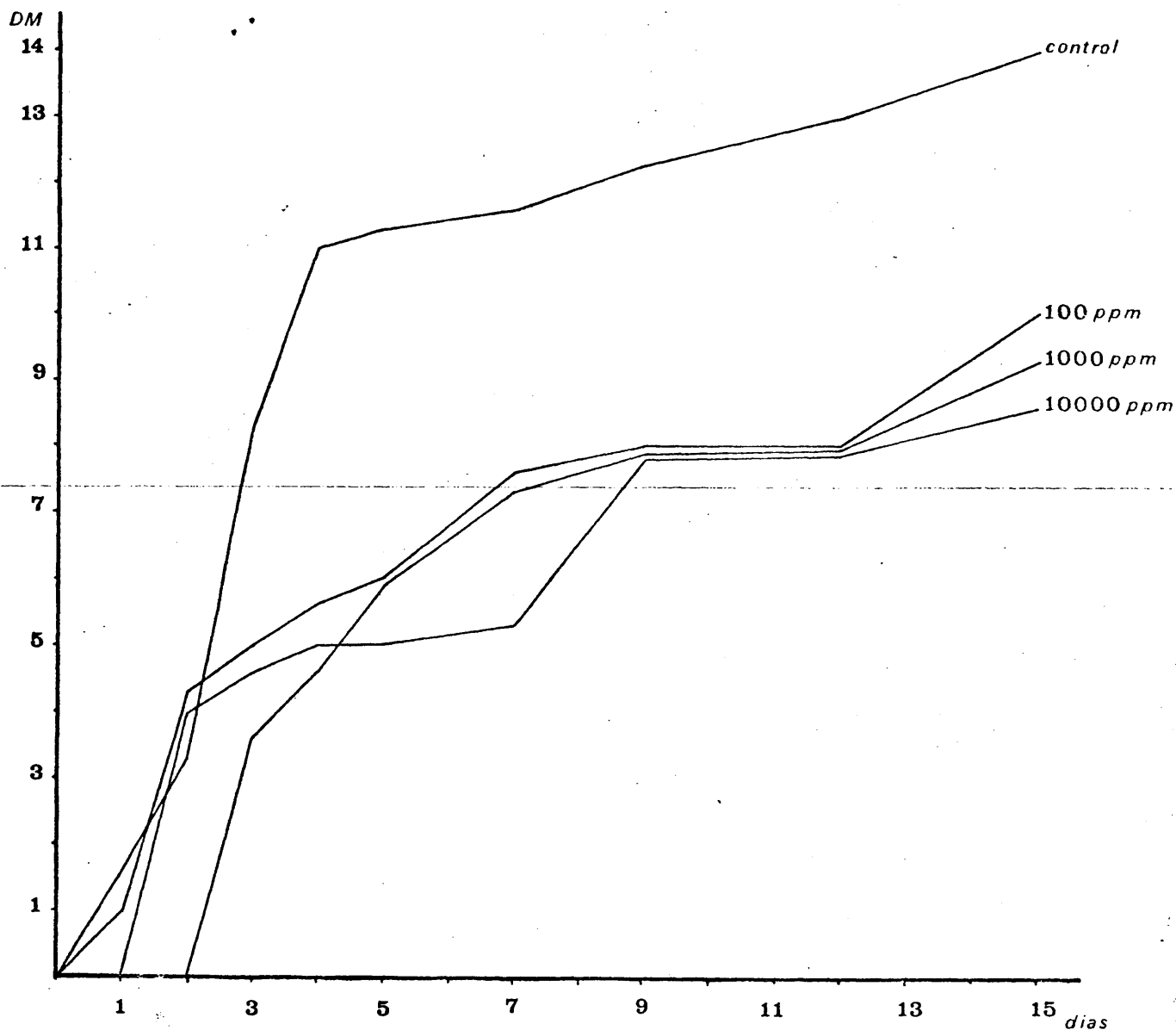


Fig. 43.- Actividad amonificante de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Sodio Dodecil Sulfato



Tabla nº XLII: Influencia del FENOPON T 77 sobre la producción de amoníac por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															D.M.
Control	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>	10 <sup>-14</sup>	10 <sup>-15</sup>	D.M.	
Días	1	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5/	
	2	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	10/	
	3	+++	+++	+++	++	+++	---	++	++	---	++	+++	++	---	---	25/	
	4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	---	+++	+++	++	---	---	33/	
	5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	++	---	---	34/	
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+++	+++	++	---	---	35/	
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	---	---	37/	
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	---	---	39/	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	42/		

Nº de Mc Crady=300

Nº amonific./gr. de lodo=2,5.10<sup>14</sup>

100																D.M.
m	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>	10 <sup>-14</sup>	10 <sup>-15</sup>	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/
	2	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	8/
	3	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	15/
	4	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	21/
	5	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	24/
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	32/
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	32/
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	32/
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	34/

Nº de Mc Crady=313

Nº amonific./gr. de lodo=16.10<sup>10</sup>

1000											D.M.
m	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/
	2	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	7/
	3	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	9/
	4	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	10/
	5	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	10/
	7	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	12/
	9	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	15/
	12	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	18/
	15	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	19/

Nº de Mc Crady=310

Nº amonific./gr. de lodo=4,5.10<sup>6</sup>

Tabla nº XLII (continuación)

	10.000 ppm	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
	3	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3
	4	+++	+++	+-	+-	---	---	---	---	---	---	8/3
	5	+++	+++	+-	+-	---	---	---	---	---	---	8/3
	7	+++	+++	++	++	---	---	---	---	---	---	9/3
	9	+++	+++	++	++	---	---	---	---	---	---	10/3
	12	+++	+++	++	++	---	---	---	---	---	---	10/3
	15	+++	+++	++	++	---	---	---	---	---	---	10/3
Nº de Mc Crady=322      Nº amonific./gr. de lodo= $20 \cdot 10^2$												

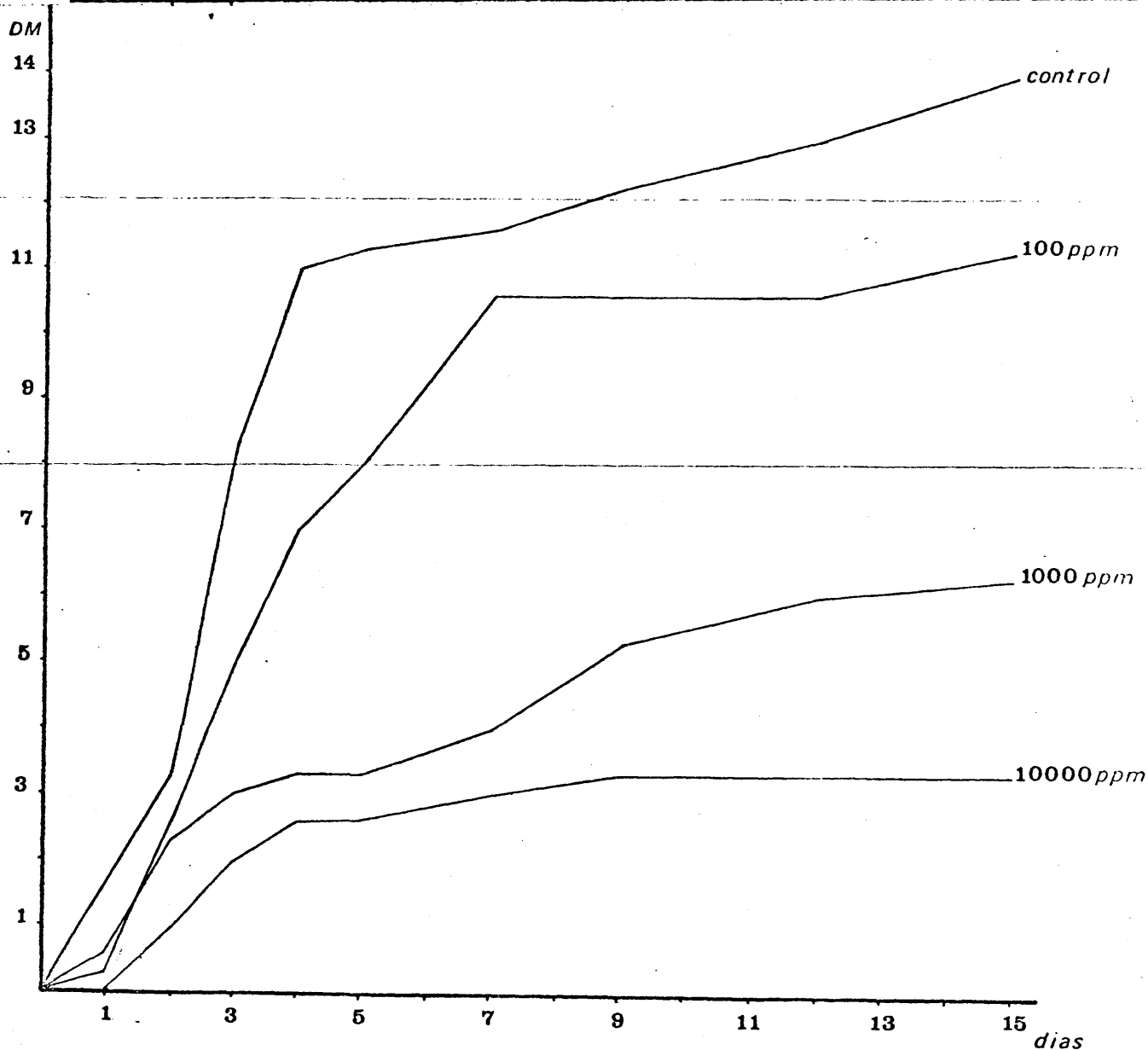


Fig. 44.- Actividad amonificante de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de fenopon T 77

Tabla nº XLIII: Influencia del CUBANE PT sobre la producción de amoníaco por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															D.M
Control		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>	10 <sup>-14</sup>	10 <sup>-15</sup>	
Días	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	5/
	2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	10/
	3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	25/
	4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	33/
	5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	34/
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	35/
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	37/
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	39/
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	42/

Nº de Mc Crady=300

Nº amonific./gr. de lodo=2,5.10<sup>14</sup>

100 m		Diluciones										D.M
		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	6
	2	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	8/
	3	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	8/
	4	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	12/
	5	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	13/
	7	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	15/
	9	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	15/
	12	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	15/
	15	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	15/

Nº de Mc Crady=300

Nº amonific./gr. de lodo=2,5.10<sup>5</sup>

1000 m		Diluciones										D.M
		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	6
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	6
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/
	4	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/
	5	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/
	7	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/
	9	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/
	12	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/
	15	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/

Nº de Mc Crady=300

Nº amonific./gr. de lodo=2,5.10<sup>2</sup>

Tabla XLIII (continuación)

10.000 ppm	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
Días											
1	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/3
2	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
3	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3
4	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3
5	+++	+++	+	---	---	---	---	---	---	---	7/3
7	+++	+++	+	---	---	---	---	---	---	---	7/3
9	+++	+++	+	---	---	---	---	---	---	---	7/3
12	+++	+++	+	---	---	---	---	---	---	---	7/3
15	+++	+++	+	---	---	---	---	---	---	---	8/3
Nº de Mc Cready=320      Nº amonific./gr. de lodo= $9,5 \cdot 10^2$											

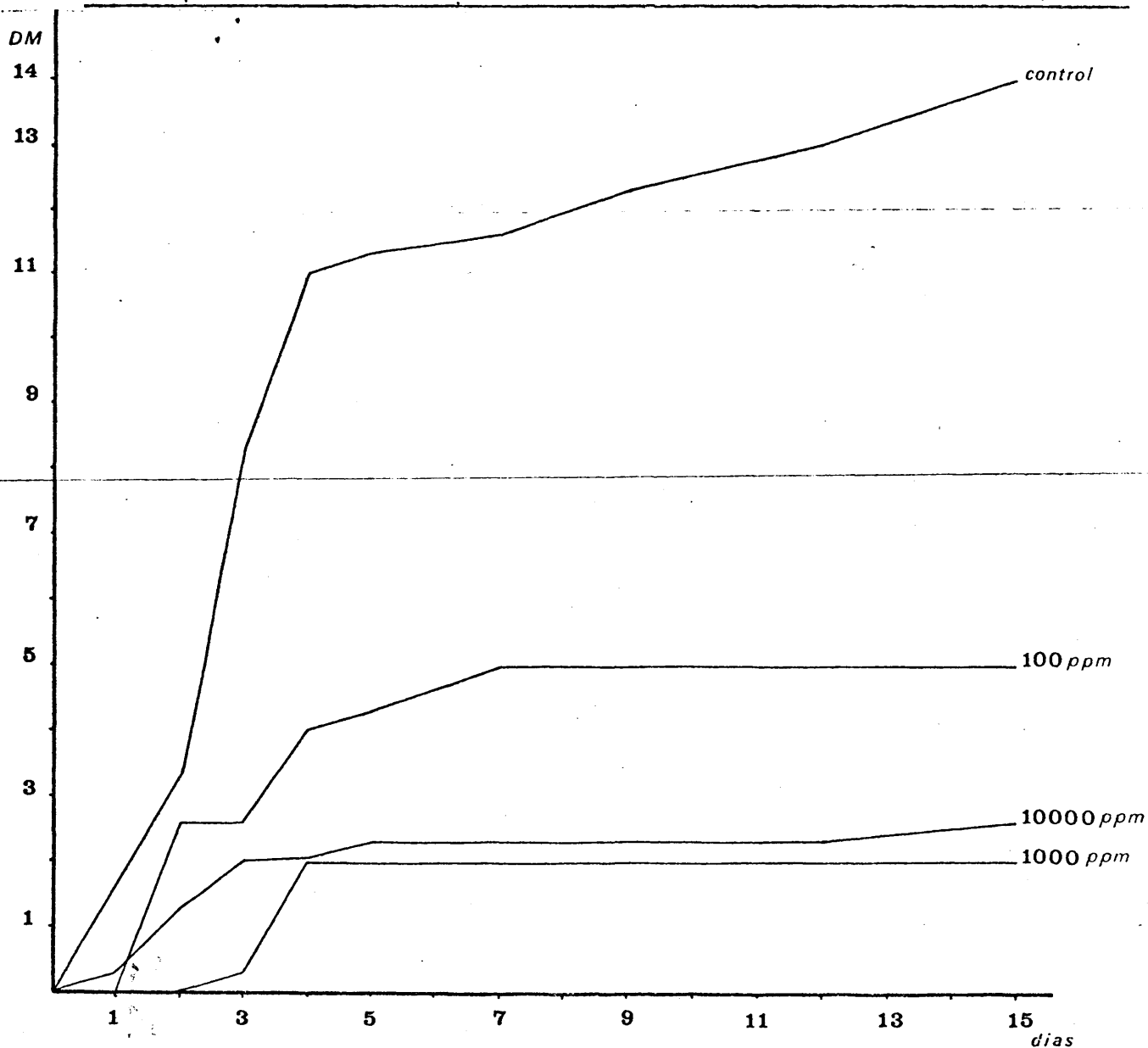


Fig. 45.- Actividad amonificante de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Dobane PE

Tabla nº XLIV: Influencia del DOBANE JNQ sobre la producción de amoníaco por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															
Control	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	$10^{-11}$	$10^{-12}$	$10^{-13}$	$10^{-14}$	$10^{-15}$	O.D.	
Días	1	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3	
	2	+++	+++	+++	+-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	10/3	
	3	+++	+++	+++	+-	+++	---	+-	+-	---	+-	+++	+-	---	---	25/3	
	4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	+-	---	+++	+++	+-	---	---	33/3	
	5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	+-	+-	+++	+++	+-	---	---	34/3	
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	+-	+-	+++	+++	+-	---	---	35/3	
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	+++	+++	+++	+-	---	---	37/3	
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	---	---	39/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	42/3	
Nº de Mc Crady=300		Nº amonific./gr. de lodo= $2,5 \cdot 10^{14}$															

100 ppm	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
Días	1	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3
	2	+++	---	-+-	---	---	---	---	---	---	4/3
	3	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	9/2
	4	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	9/3
	5	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	12/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	15/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	15/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	15/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	16/3	
Nº de Mc Crady=310		Nº amonific./gr, de lodo= $4,5 \cdot 10^5$									

	1000 ppm	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.P.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3
	3	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
	4	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	10/3
	5	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	10/3
	7	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	12/3
	9	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	12/3
	12	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	12/3
	15	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	12/3
No de Mc Crady=300		No amonific./gr. de lodo= $2,5 \cdot 10^4$										

Tabla nº XLIV (continuación)

10.000 ppm	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
3	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3
4	+++	+++	+	---	---	---	---	---	---	---	7/3
5	+++	+++	+	---	---	---	---	---	---	---	7/3
7	+++	+++	+	---	---	---	---	---	---	---	7/3
9	+++	+++	+	---	---	---	---	---	---	---	7/3
12	+++	+++	+	---	---	---	---	---	---	---	7/3
15	+++	+++	+	---	---	---	---	---	---	---	7/3
Nº de Mc Crady=310      Nº amonific./gr. de lodo= $4,5 \cdot 10^2$											

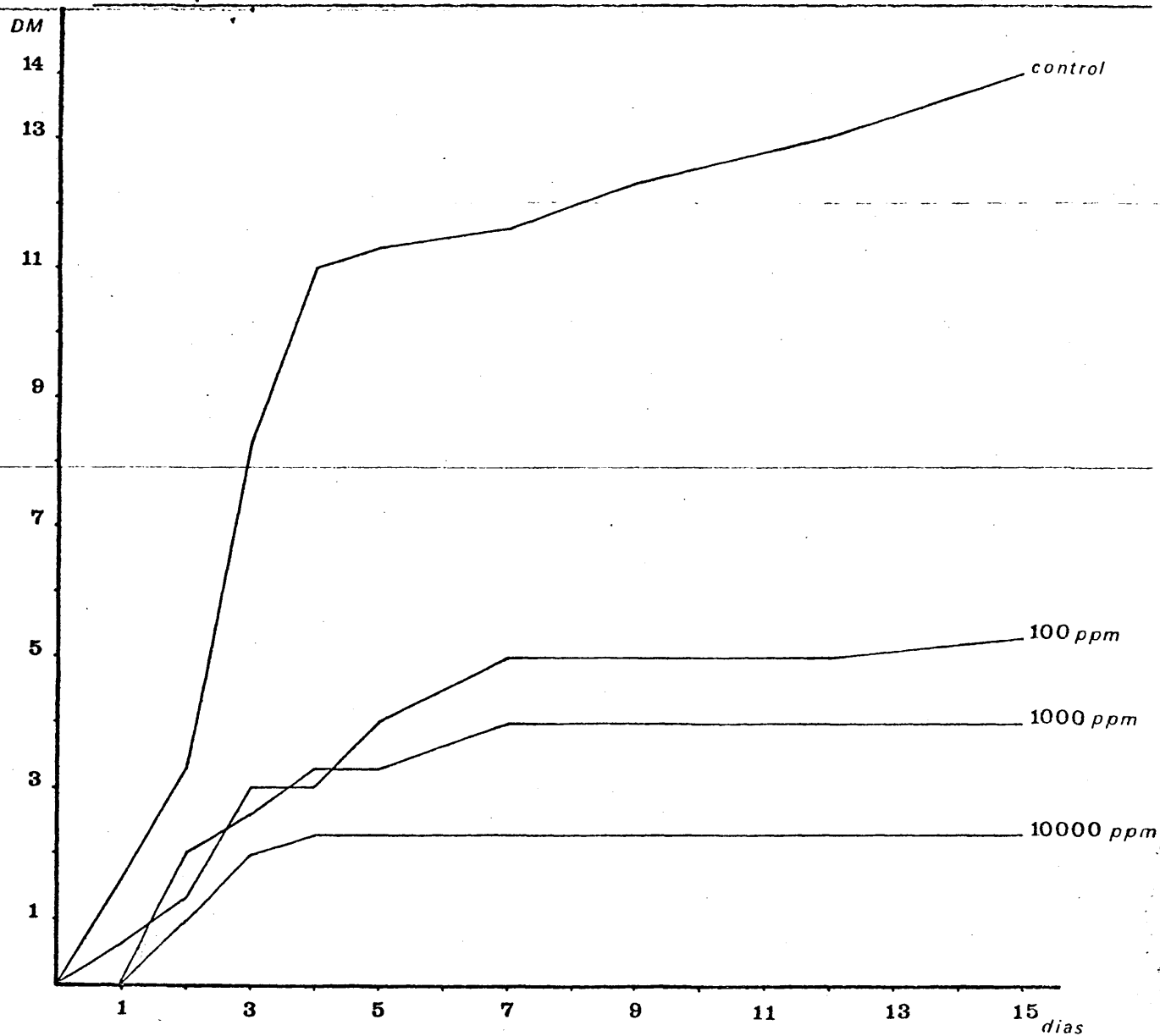


FIG.46.- Actividad amonificante de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Dobane JNQ



Tabla nº XLV: Influencia del LISSAPOL SNXP sobre la producción de amoníaco por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															D.M.
Control		-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10	-11	-12	-13	-14	-15	
Días	1	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
		Nº de Mc Crady=300										Nº amonific./gr. de lodo=2,5.10 <sup>14</sup>					
100 ppm		-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10	-11	-12	-13	-14	-15	D.M.
Días	1	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
		Nº de Mc Crady=300										Nº amonific./gr. de lodo=2,5.10 <sup>14</sup>					
1000 ppm		-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10	D.M.					
Días	1	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10						
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						
	3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						
	4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						
	5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++							
		Nº de Mc Crady=322										Nº amonific./gr. de lodo=20.10 <sup>5</sup>					

NOTA: En ningún cultivo con dosis de 10.000 ppm se detectó producción de amoníaco, por lo que el Nº de amonificantes/gr. de lodo=0. Sin embargo había crecimiento en todos los tubos hasta la dilución 10<sup>-5</sup> inclusive.

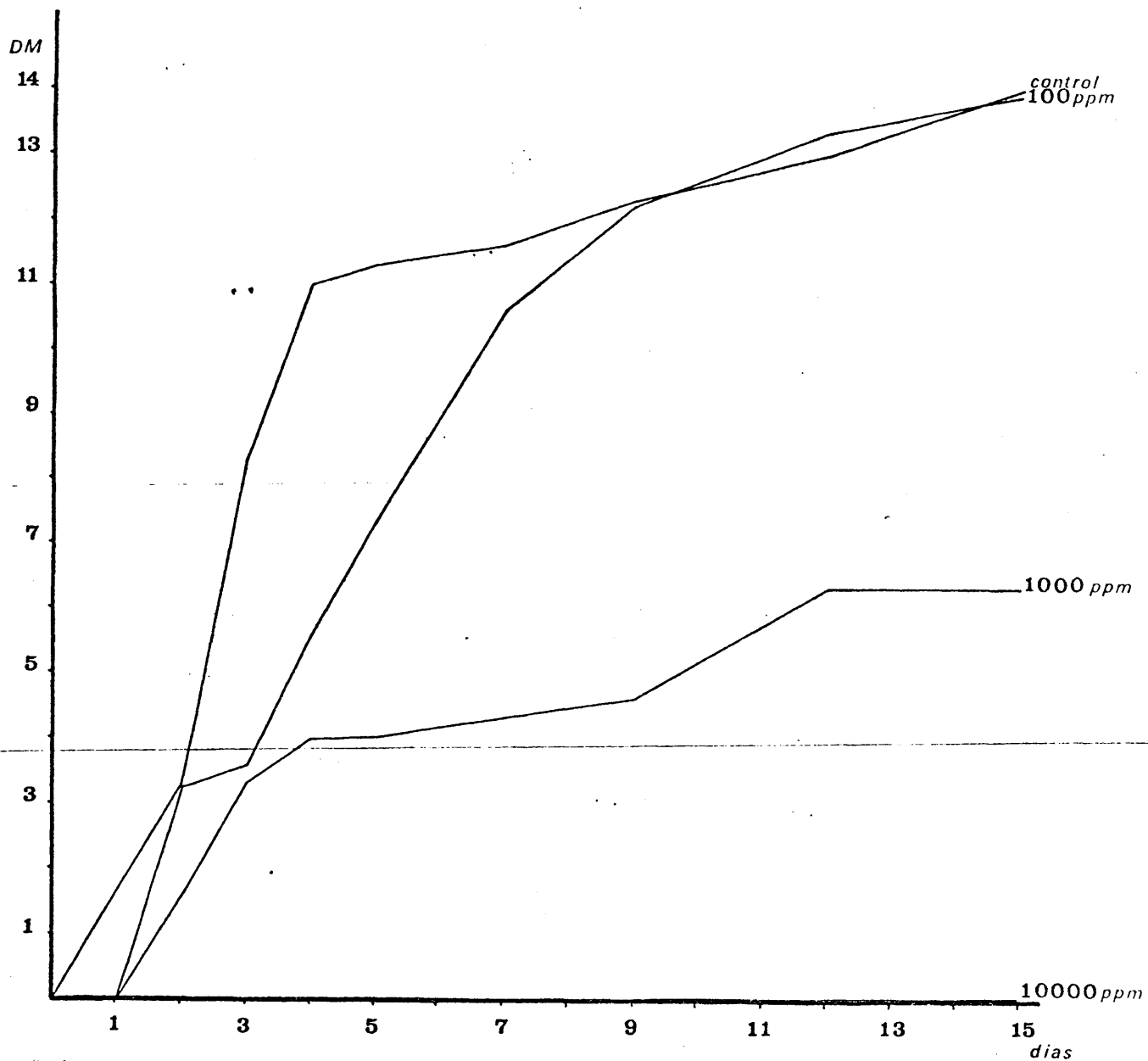


Fig. 47.- Actividad amonificante de la microflora de 1gr. de lodo en presencia de Lissapol SNXP.



Tabla nº XLVI: Influencia del LISSAPOL DS sobre la producción de amoníaco por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															
Control		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>	10 <sup>-14</sup>	10 <sup>-15</sup>	D.M.
Días	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	5/3
	2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	10/3
	3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	25/3
	4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	33/3
	5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	34/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	35/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	37/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	39/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	42/3	
		Nº de Mc Crady=300					Nº amonific./gr. de lodo=2,5.10 <sup>14</sup>										
100 ppm		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>	10 <sup>-14</sup>	10 <sup>-15</sup>	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	9/3
	3	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	9/3
	4	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	12/3
	5	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	15/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	25/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	26/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	29/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	31/3	
		Nº de Mc Crady=310					Nº amonific./gr. de lodo=4,5.10 <sup>10</sup>										
1000 ppm		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>						D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	2	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---						3/3
	3	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---						9/3
	4	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---						13/3
	5	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---						16/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---						19/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---						21/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	21/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	21/3	
		Nº de Mc Crady=321					Nº amonific./gr. de lodo=15.10 <sup>6</sup>										

NOTA: Los cultivos con dosis de 10.000 ppm no presentaban amonificación, aunque sí había crecimiento en todos los tubos hasta la dilución 10<sup>-5</sup> inclusive, y en un tubo hasta 10<sup>-8</sup>

ff

NA

10

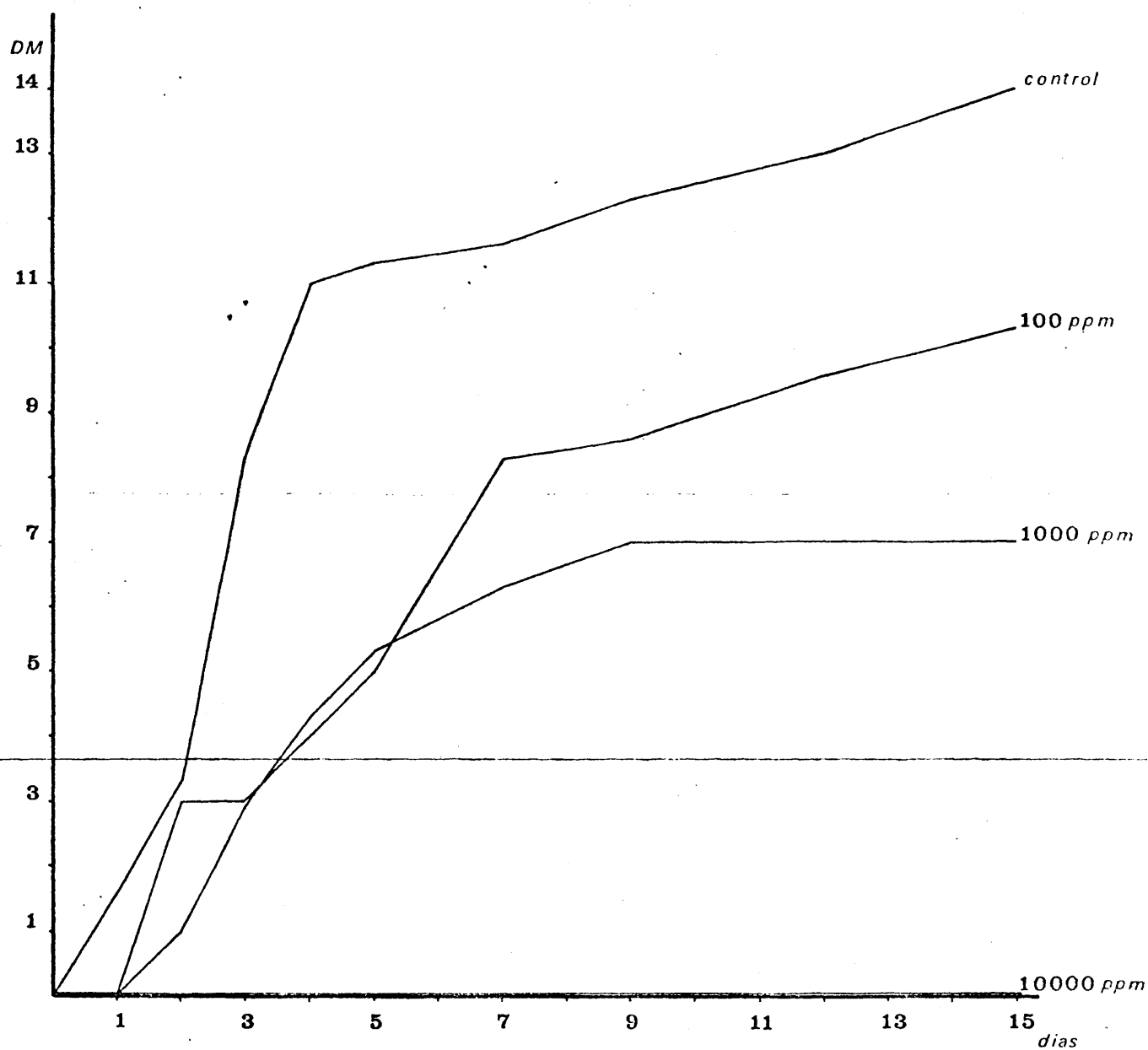


Fig. 48.- Actividad amonificante de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Lissapol DS

1

10

Tabla nº XLVIII: Influencia de la concentración de tensoactivos sobre los microorganismos oxidantes de los nitritos en un gramo de lodo

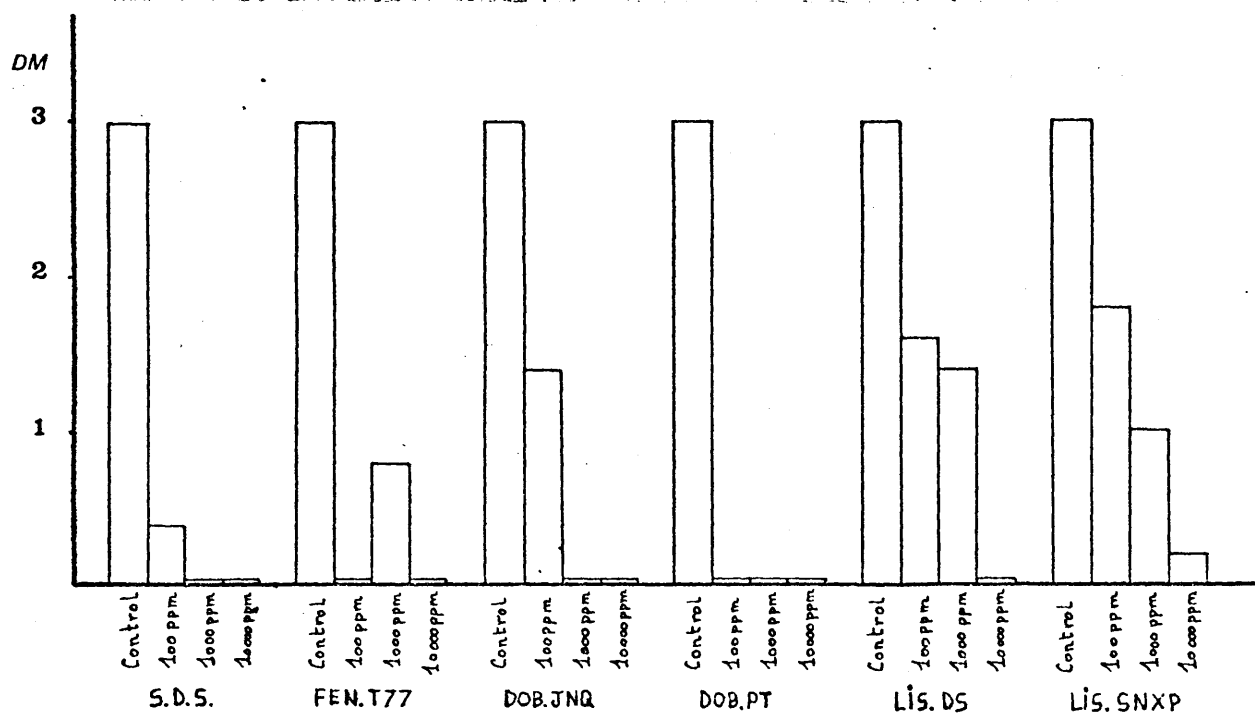


Fig. 49.- Actividad biológica de los microorganismos oxidantes del amoníaco presentes en 1 gr. de lodo en presencia de distintos tensoactivos.

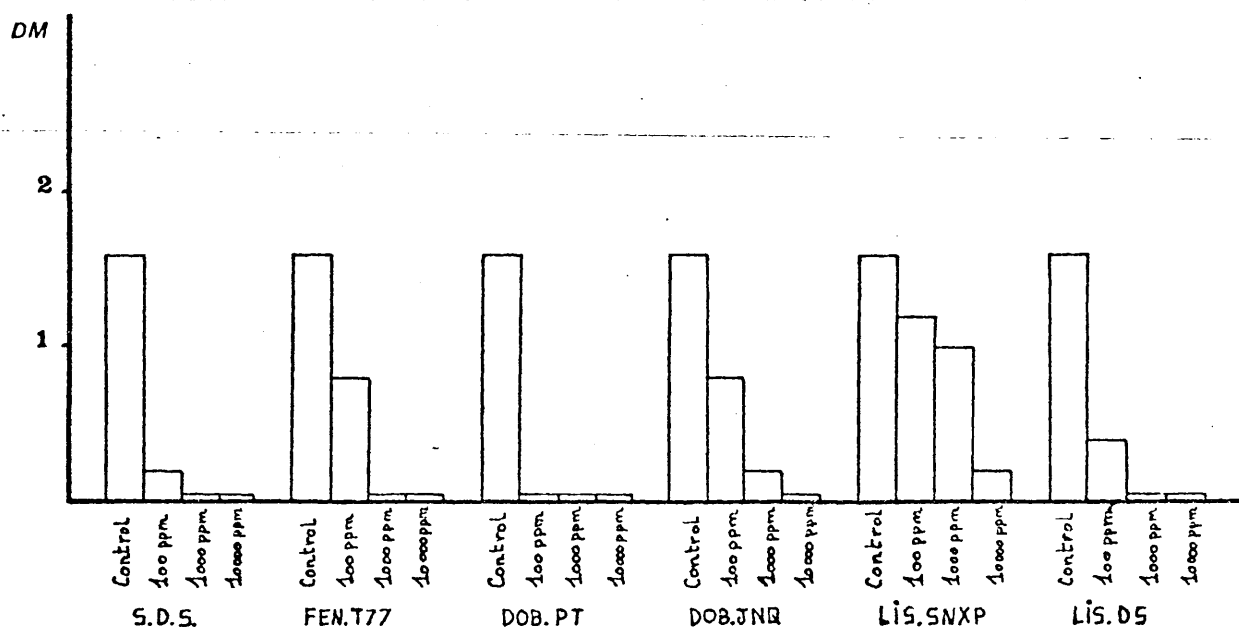


Fig. 50.- Actividad biológica de los microorganismos oxidantes de los nitritos presentes en 1 gr. de lodo en presencia de distintos tensoactivos

### VIII.3.2. Influencia sobre la Desnitrificación.

Siguiendo el método descrito en el apartado 9 del Cap. de Material y Métodos se obtuvieron los resultados que se expresan en las Tablas XLIX y LX y Figuras 51 a 63.

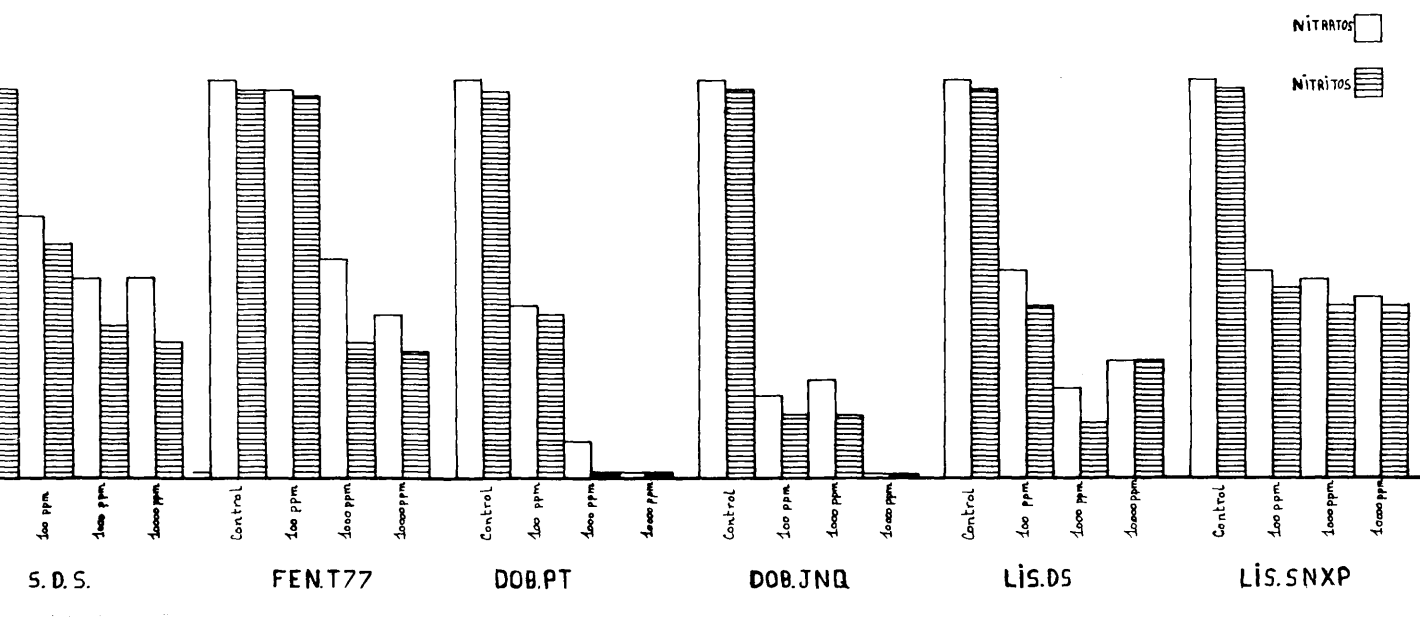


Fig. 51. Influencia de la concentración de tensoactivos sobre los microorganismos de 1.gr. de lodo que realizan la Desnitrificación.

Tabla nº XLIX: Influencia del SODIO DODECIL SULFATO en la reducción de nitratos por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															
Control		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>	10 <sup>-14</sup>	10 <sup>-15</sup>	D.M.
Días	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	5/3
	2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	11/3
	3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	16/3
	4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	21/3
	5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	24/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	29/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	35/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	41/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	44/3	
		Nº de Mc Crady=532					Nº desnitrif./gr. de lodo=110.10 <sup>14</sup>										
100 ppm		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>						D.M.
Días	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						3/3
	2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						12/3
	3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						12/3
	4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						12/3
	5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						12/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						16/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						26/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						27/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						29/3
		Nº de Mc Crady=332					Nº desnitrif./gr. de lodo=110.10 <sup>9</sup>										
1000 ppm		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>						D.M.
Días	1	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						2/3
	2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						9/3
	3	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						12/3
	4	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						12/3
	5	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						15/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						15/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						20/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						20/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						22/3	
		Nº de Mc Crady=310					Nº desnitrif./gr. de lodo=4,5.10 <sup>7</sup>										

Tabla nº XLIX (continuación)

10.000 ppm	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
1	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
2	+++	+++	+-	+++	---	---	---	---	---	---	10/3
3	+++	+++	+-	+++	---	+-	---	---	---	---	12/3
4	+++	+++	+-	+++	---	+-	---	---	---	---	12/3
5	+++	+++	+++	+++	---	+++	---	---	---	---	15/3
7	+++	+++	+++	+++	---	+++	---	---	---	---	15/3
9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	---	---	---	19/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+-	---	---	---	20/3
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	+-	---	22/3
Nº de Mc Crady=301      Nº desnitrif./gr. de lodo= $4 \cdot 10^{-7}$											

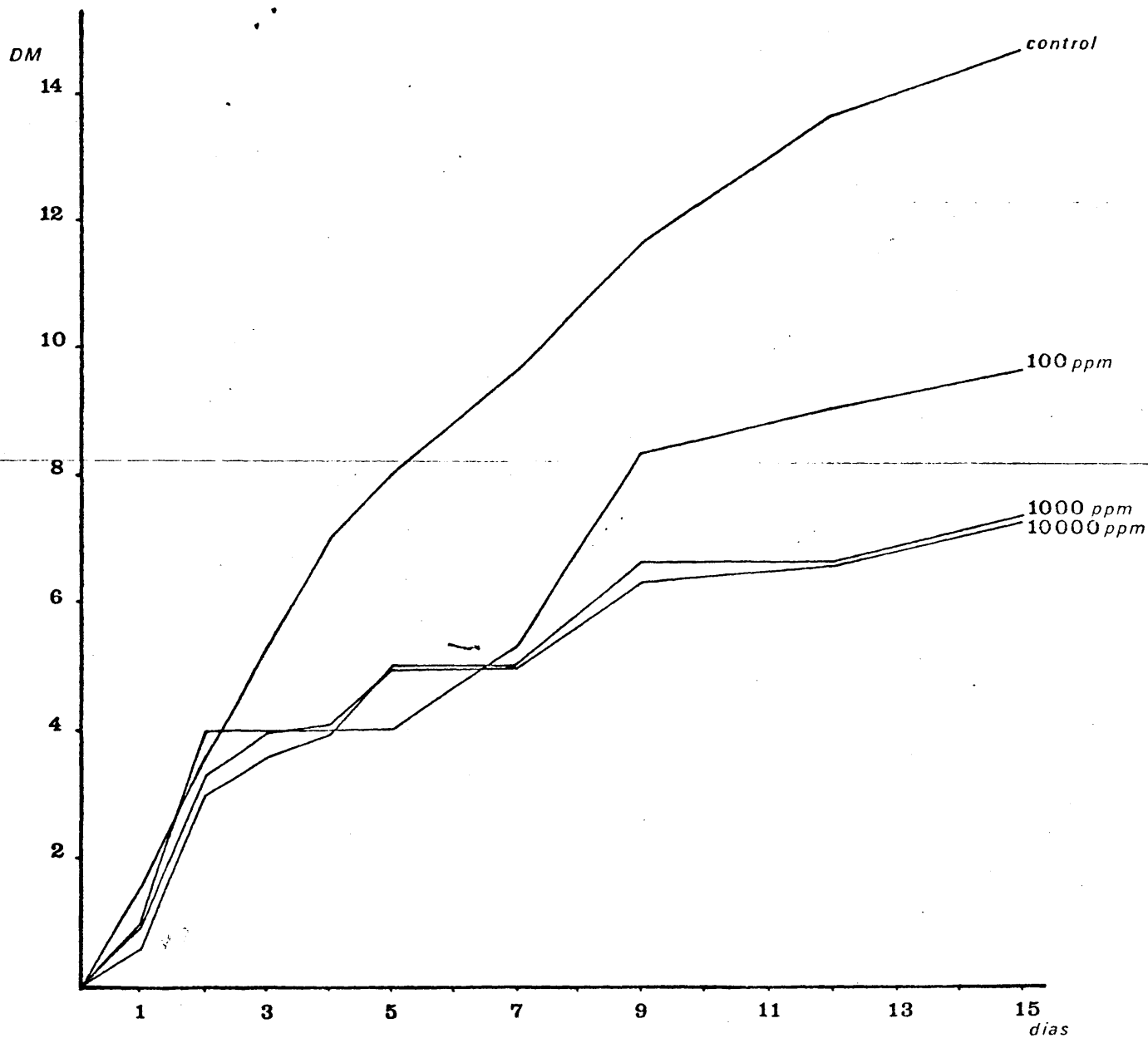


Fig. 52.- Actividad reductora de los nitratos de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Sodio Dodecil Sulfato



Tabla nº L: Influencia del SODIO DODECIL SULFATO sobre la reducción de nitritos por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															D.M.
Control		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>	10 <sup>-14</sup>	10 <sup>-15</sup>	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
	3	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	7/3
	4	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	12/3
	5	+++	+++	+++	+++	++	---	++	++	---	---	---	---	---	---	---	17/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	---	26/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	29/3
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	36/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	43/3

Nº de Mc Crady=331

Nº desnitrif./gr. de lodo=45.10<sup>14</sup>

100 m		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/3
	3	+++	++	++	---	---	---	---	---	---	---	5/3
	4	+++	++	++	---	---	---	---	---	---	---	5/3
	5	+++	+++	++	++	---	---	---	---	---	---	9/3
	7	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	10/3
	9	+++	+++	+++	++	++	---	---	---	---	---	11/3
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	+++	++	---	21/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	26/3

Nº de Mc Crady=311

Nº desnitrif./gr. de lodo=7,5.10<sup>8</sup>

1000 ppm		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	5	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3
	7	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3
	9	+++	+++	++	++	++	---	---	---	---	---	10/3
	12	+++	+++	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	15/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	---	---	---	17/3

Nº de Mc Crady=311

Nº desnitrif./gr. de lodo=7,5.10<sup>5</sup>

Tabla nº L (continuación)

10.000 ppm	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
4	+-	+-	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
5	+++	+++	+-	+-	---	---	---	---	---	---	8/3
7	+++	+++	+-	+-	---	---	---	---	---	---	8/3
9	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	12/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	15/3
15	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	15/3
Nº de Mc Crady=300      Nº desnitrif./gr. de lodo= $2,5 \cdot 10^5$											

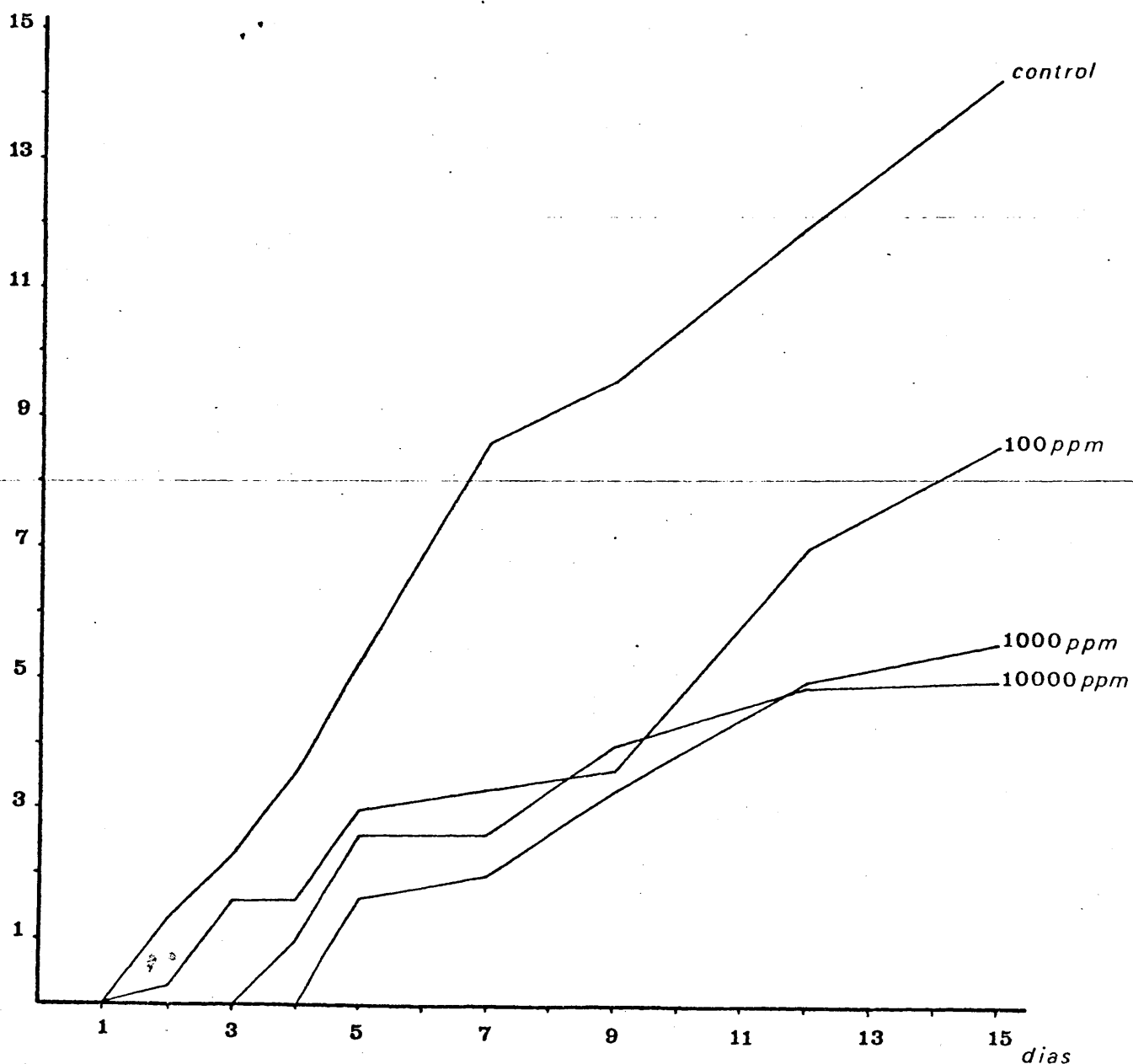


Fig. 53.- Actividad reductora de los nitritos de la microflora de un gr. de lodo en presencia de Sodio Dodecil Sulfato

Tabla nº LI: Influencia del FENOPON T 77 sobre la reducción de nitratos por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															
Control	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10	-11	-12	-13	-14	-15	D.M.	
	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10		
Días	1	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3	
	2	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	11/3	
	3	+++	+++	+++	+++	++-	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	16/3	
	4	+++	+++	+++	+++	+++	++-	++-	++-	---	---	---	---	---	---	21/3	
	5	+++	+++	+++	+++	+++	++-	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	24/3	
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	29/3	
9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	++-	++-	++-	---	35/3	
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	41/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	44/3	
Nº de Mc Crady=332																	
Nº desnitrif./gr. de lodo=110.10 <sup>14</sup>																	

Días	100	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	$10^{-11}$	$10^{-12}$	$10^{-13}$	$10^{-14}$	$10^{-15}$	D.M.
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
3	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
4	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
5	+++	---	+	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5/
7	+++	+++	+++	---	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	14/
9	+++	+++	+++	---	+++	+++	+	---	---	---	+	---	---	---	---	---	23/
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	---	+++	+++	+	---	+++	+	---	---	32/
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	45/

$N^{\circ}$  de Mc Crady=331       $N^{\circ}$  desnitrif./gr. de lodo=45.10<sup>14</sup>

Días	1000	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10	D.M.
	m	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/
3	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/
4	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	7/
5	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	9/
7	+++	+++	+	+	+	+	---	---	---	---	---	14/
9	+++	+++	+++	+	+	+	---	---	---	---	---	16/
12	+++	+++	+++	+	+	+	---	+	---	---	---	17/
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	24/

Nº de Mc Crady=300      Nº desnitrif./gr. de lodo=2,5.10<sup>8</sup>

Tabla nº LI (continuación)

10.000 ppm	-1 10	-2 10	-3 10	-4 10	-5 10	-6 10	-7 10	-8 10	-9 10	-10 10	D.M.
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
3	+++	++-	-+-	---	---	---	---	---	---	---	6/3
4	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	9/3
5	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	9/3
7	+++	+++	+++	-++	++-	++-	---	---	---	---	15/3
9	+++	+++	+++	+++	++-	+++	---	---	---	---	17/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	17/3
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	18/3
Nº de Mc Crady=300      Nº desnitrif./gr. de lodo= $2,5 \cdot 10^6$											

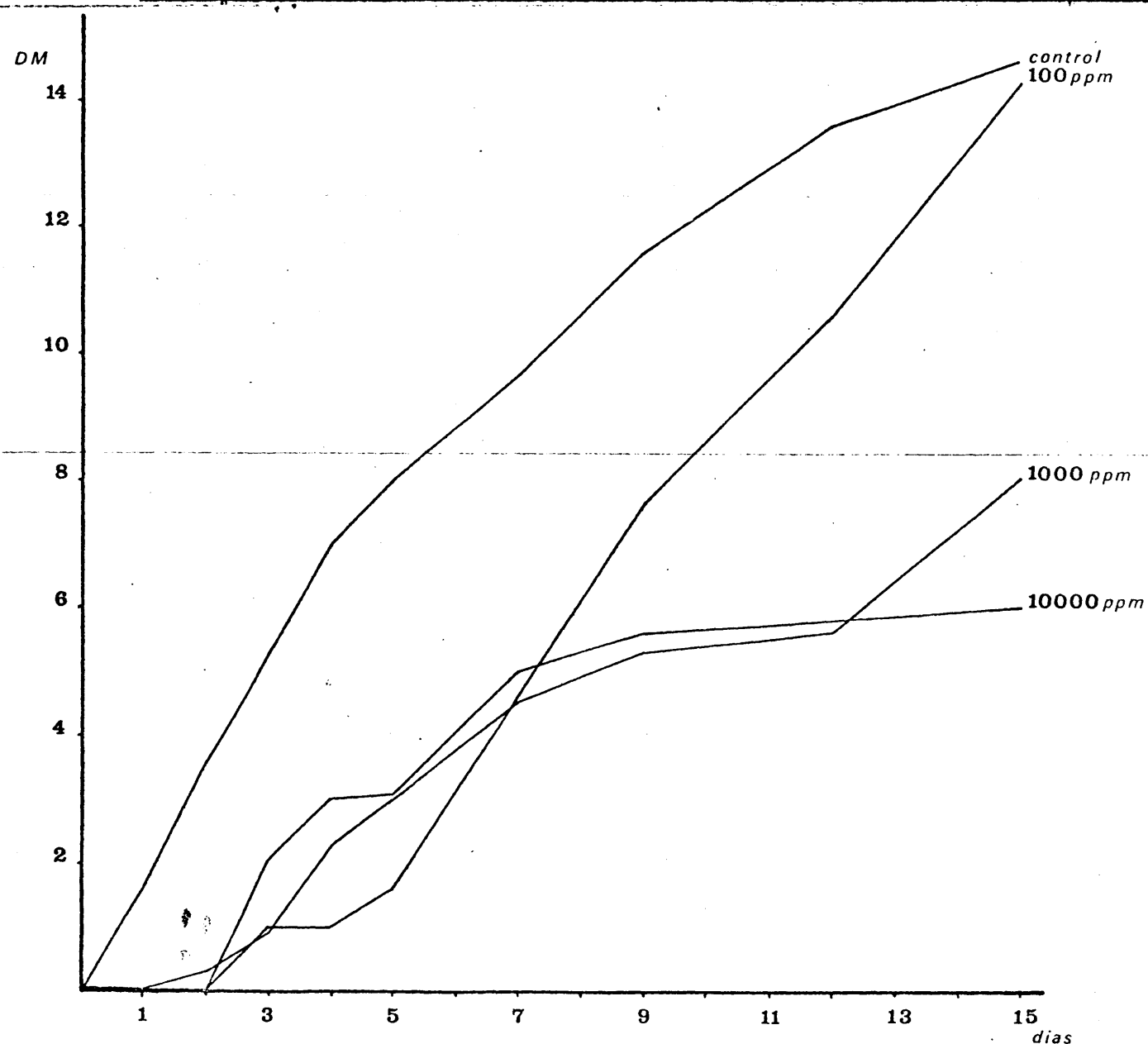


Fig. 54.- Actividad reductora de los nitratos de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Fenopon T 77

Tabla nº LII: Influencia del FENOPCN T 77 sobre la reducción de los nitritos por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															
Control	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>	10 <sup>-14</sup>	10 <sup>-15</sup>	D.E.	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	
	2	++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3	
	3	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	7/3	
	4	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	11/3	
	5	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	17/3	
	7	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	23/3	
9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	29/3		
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	---	36/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	43/3	
Nº de Mc Crady=331		Nº desnitrif./gr. de lodo=45.10 <sup>14</sup>															
100 m	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>	10 <sup>-14</sup>	10 <sup>-15</sup>	D.E.	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	
	4	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3	
	5	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3	
	7	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	10/3	
	9	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	11/3	
	12	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	21/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	42/3		
Nº de Mc Crady=330		Nº desnitrif./gr. de lodo=25.10 <sup>14</sup>															
1000 m	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>						D.E.	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0	
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0	
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0	
	4	+++	---	---	---	---	---	---	---	---						3/3	
	5	+++	---	---	---	---	---	---	---	---						4/3	
	7	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---						7/3	
	9	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---						9/3	
	12	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---						9/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	++	---	---	---	---						15/3	
Nº de Mc Crady=321		Nº desnitrif./gr. de lodo=15.10 <sup>4</sup>															

Tabla nº LII (continuación)

10.000 m	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
Días											
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3
4	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3
5	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	8/3
7	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	9/3
9	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	12/3
12	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	12/3
15	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	14/3

Nº de Mc Crady=320      Nº desnitrif./gr. de lodo= $9,5 \cdot 10^4$

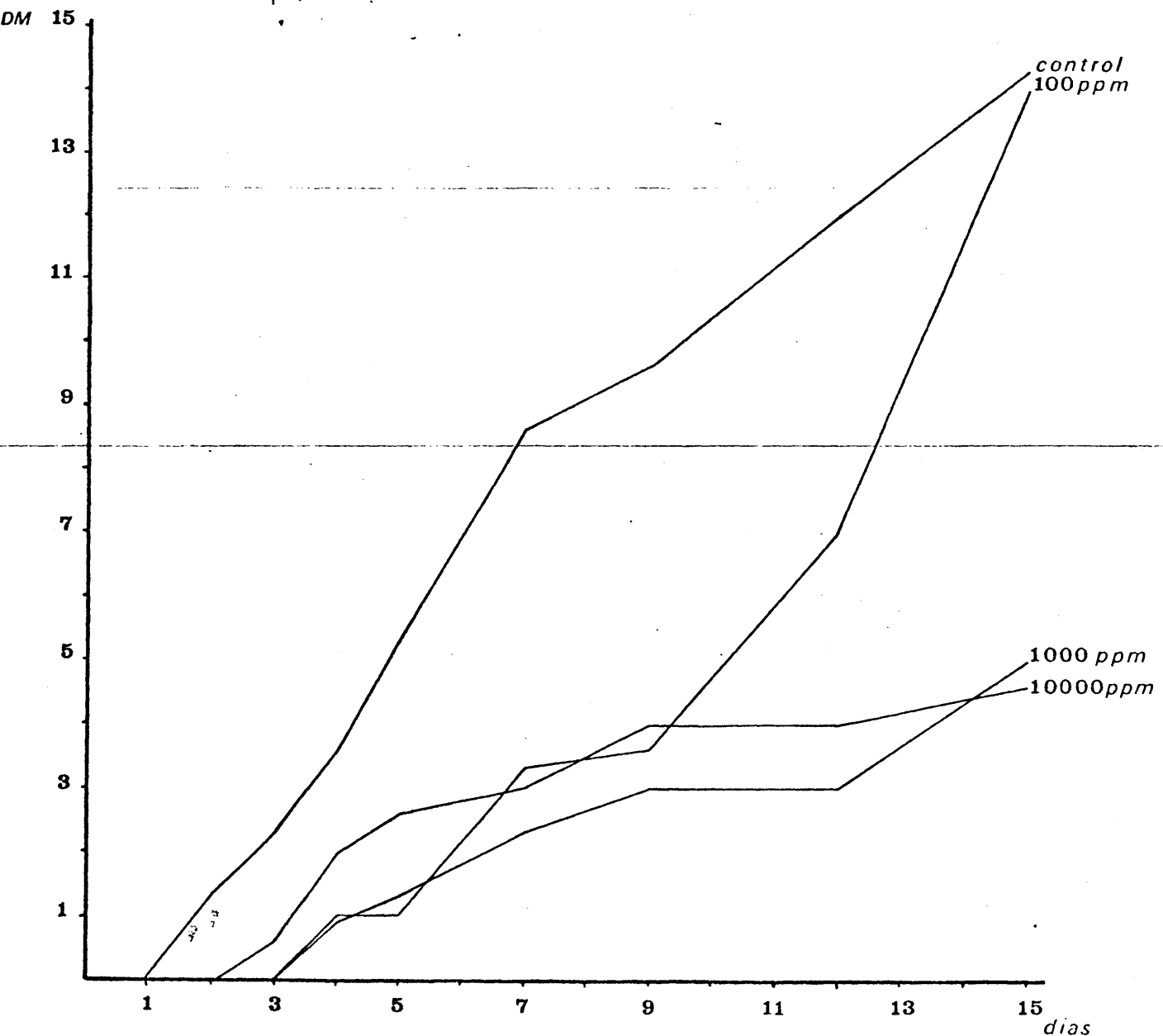


Fig. 55.- Actividad reductora de los nitritos de la microflora de lgr. de lodo en presencia de Fenopon I 77

Tabla nº LIII: Influencia del DCBANE PT sobre la reducción de nitratos por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															D.M.
Control		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>	10 <sup>-14</sup>	10 <sup>-15</sup>	
Días	1	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3
	2	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	11/3
	3	+++	+++	+++	+++	++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	16/3
	4	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	---	---	---	---	---	---	21/3
	5	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	24/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	---	29/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	++	---	35/3
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	41/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	44/3

Nº de Mc Crady=332      Nº desnitrif./gr. de lodo=110.10<sup>14</sup>

100 m		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	D.M.
Días		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	3	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
	4	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3
	5	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	7/3
	7	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	9/3
	9	+++	+++	+++	++	---	++	---	---	---	---	11/3
	12	+++	+++	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	16/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	---	---	---	19/3

Nº de Mc Crady=310      Nº desnitrif./gr. de lodo=4,5.10<sup>6</sup>

1000 m		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	D.M.
Días		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	7	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	9	++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
	12	++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
	15	++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3

Nº de Mc Crady=220      Nº desnitrif./gr. de lodo=2.10

NOTA: En la dosis de 10.000 ppm no se registró crecimiento ni desnitrificación en ningún tubo de cultivo, por lo que el Nº desnitrif./gr. de lodo=0

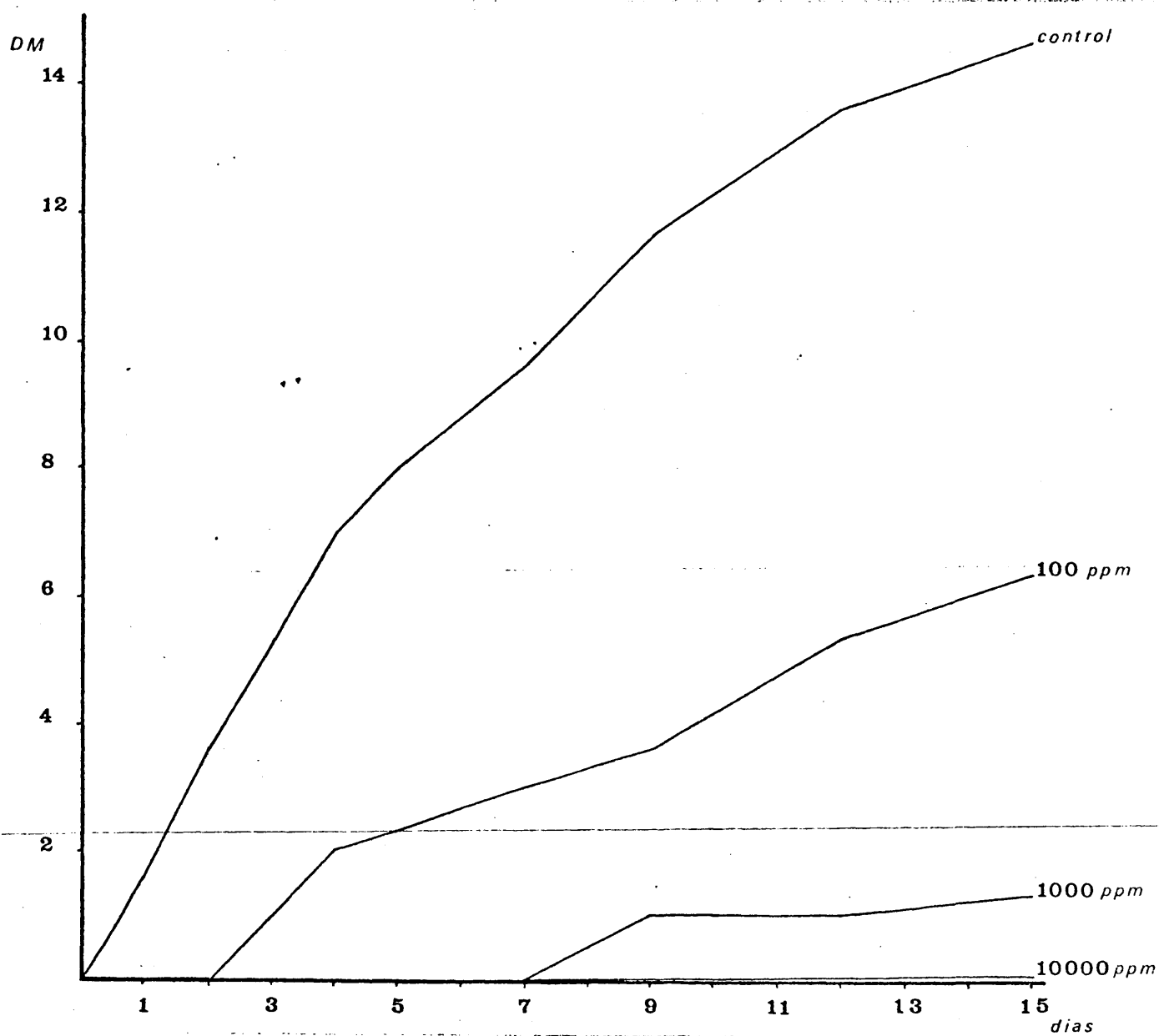


Fig. 56.- Actividad reductora de los nitratos de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Dobane PT.



Tabla nº LIV: Influencia del DOBANE PT sobre la reducción de nitritos por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															D.M.
Días	Control	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	$10^{-11}$	$10^{-12}$	$10^{-13}$	$10^{-14}$	$10^{-15}$	
	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
	3	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	7/3
	4	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	11/3
	5	+++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	17/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	26/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	29/3
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	36/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	43/3
Nº de Mc Crady=331		Nº desnitrif./gr. de lodo= $45 \cdot 10^{14}$															

100 m		Diluciones										D.M.
Días		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	
	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/3
	4	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3
	5	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3
	7	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
	9	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	9/3
	12	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	10/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	18/3
Nº de Mc Crady=300		Nº desnitrif./gr. de lodo= $2,5 \cdot 10^6$										

NOTA: En las dosis de 1000 y 10.000 ppm, no se registró crecimiento ni reducción de nitritos en ningún cultivo, por lo que el Nº de desnitrificantes/gr. de lodo=0

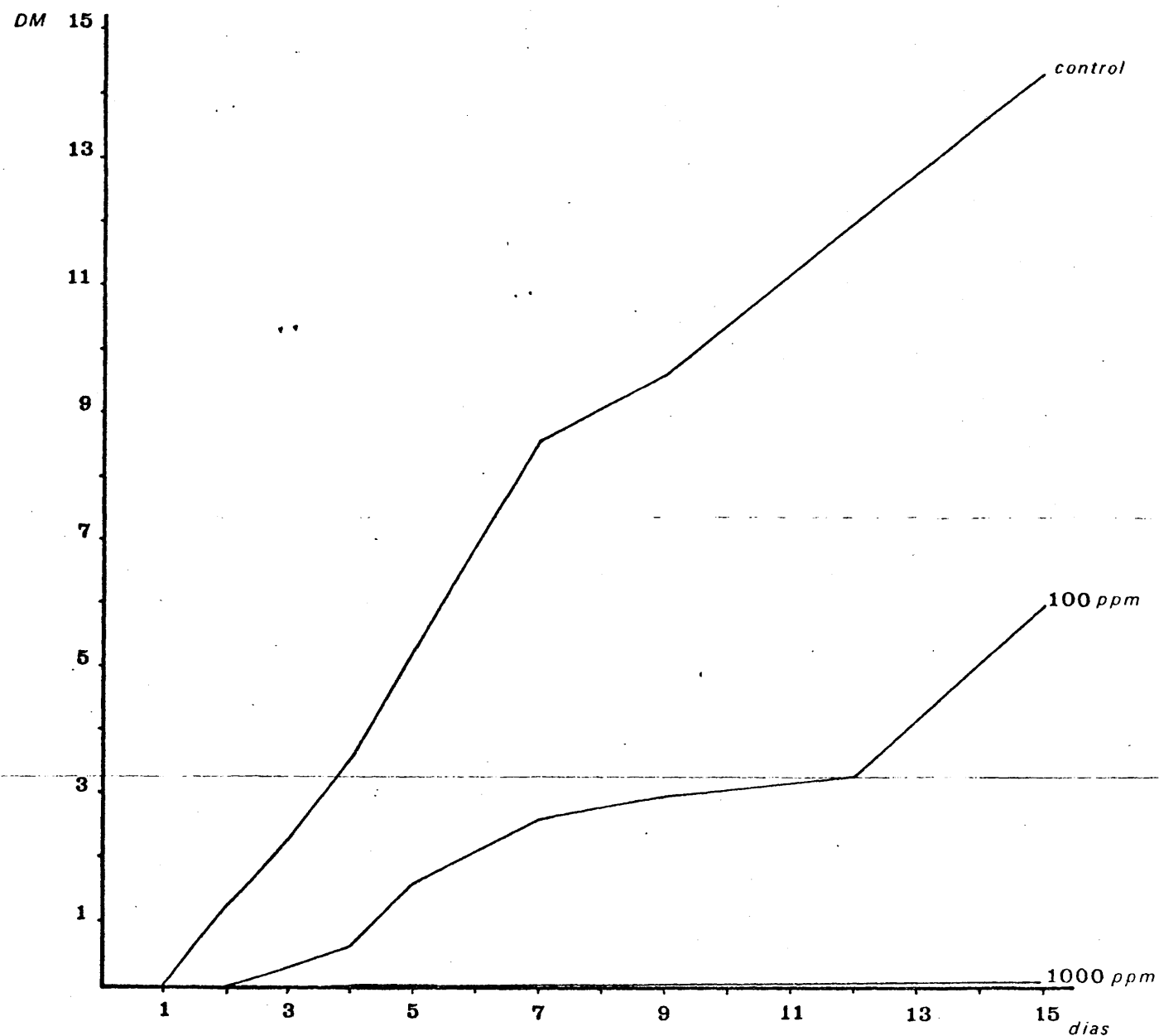


Fig. 57.- Actividad reductora de los nitritos de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Dobane PT.

Tabla nº LV: Influencia del DOBANE JNQ sobre la reducción de nitratos por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis	Diluciones															
Control	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>	10 <sup>-14</sup>	10 <sup>-15</sup>	D.M.
Días	1	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3
	2	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	11/3
	3	+++	+++	+++	+++	++-	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	16/3
	4	+++	+++	+++	+++	+++	++-	++-	++-	---	---	---	---	---	---	21/3
	5	+++	+++	+++	+++	+++	++-	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	24/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	29/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	++-	++-	++-	---	35/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	41/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	44/3
Nº de Mc Crady=332      N° desnitrif./gr. de lodo=110.10 <sup>14</sup>																
100 ppm	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>						D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	4	++-	++-	---	---	---	---	---	---	---						2/3
	5	++-	++-	---	---	---	---	---	---	---						3/3
	7	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---						7/3
	9	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---						7/3
12	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---						7/3
15	+++	+++	++-	++-	---	---	---	---	---	---						9/3
Nº de Mc Crady=321      N° desnitrif./gr. de lodo=15.10 <sup>2</sup>																
1000 ppm	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>						D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	4	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	5	++-	++-	---	---	---	---	---	---	---						2/3
	7	++-	++-	---	---	---	---	---	---	---						3/3
	9	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---						4/3
12	+++	++-	++-	---	---	---	---	---	---	---						5/3
15	+++	+++	++-	+++	---	---	---	---	---	---						11/3
Nº de Mc Crady=323      N° desnitrif./gr. de lodo=30.10 <sup>2</sup>																

NOTA: En ninguno de los cultivos de la dosis de 10.000 ppm se registró reducción de los nitratos, por lo que el Nº de desnitrificantes/gr. de lodo=0

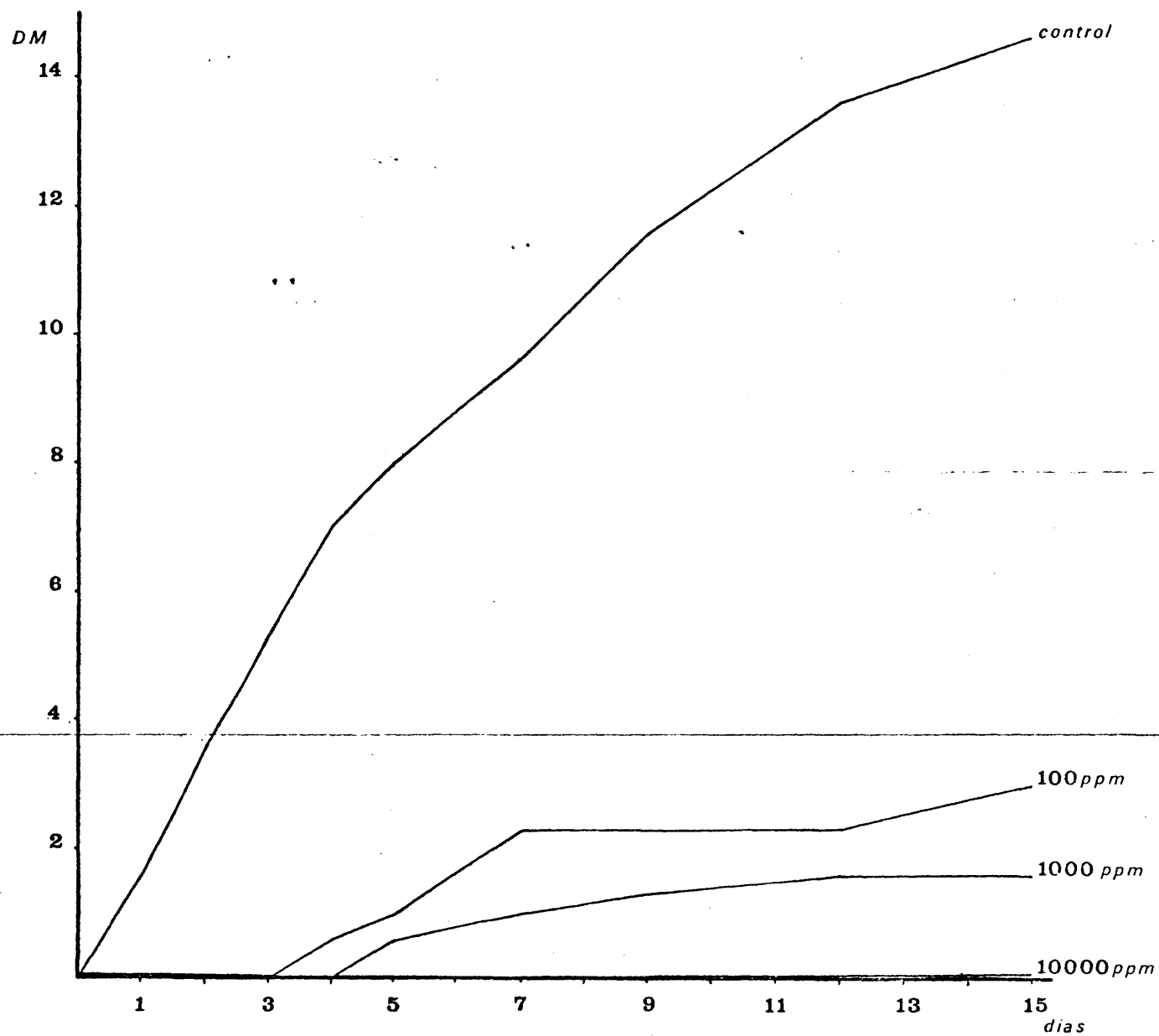


Fig. 58.- Actividad reductora de los nitratos de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Dobane JNQ.

Tabla nº LVI: Influencia del DOBRANE JNQ sobre la reducción de nitritos por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															
Control		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>	10 <sup>-14</sup>	10 <sup>-15</sup>	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	++-	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
	3	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	7/3
	4	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	11/3
	5	+++	+++	+++	++-	+++	++-	++-	++-	---	---	---	---	---	---	---	17/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	++-	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	26/3
9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	29/3	
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	++-	++-	++-	---	36/3
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	43/3

Nº de Mc Crady=331

Nº desnitrif./gr.de lodo=45.10<sup>14</sup>

1000		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	D.M.	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	
	4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	
	5	++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3	
	7	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3	
	9	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	7/3	
	12	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	7/3	
	15	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	7/3	

Nº de Mc Crady=310

Nº desnitrif./gr, de lodo=4.5.10<sup>2</sup>

1000		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	D.M.	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	
	4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	
	5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	
	7	++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3	
	9	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3	
	12	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3	
	15	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	7/3	

Nº de Mc Crady=310

Nº desnitrif./gr. de lodo= 4,5.10<sup>2</sup>

NOTA: En los cultivos con la dosis de 10.000 ppm no se encontró desnitrificación por lo que el Nº de desnitrificantes/gr, de lodo=0

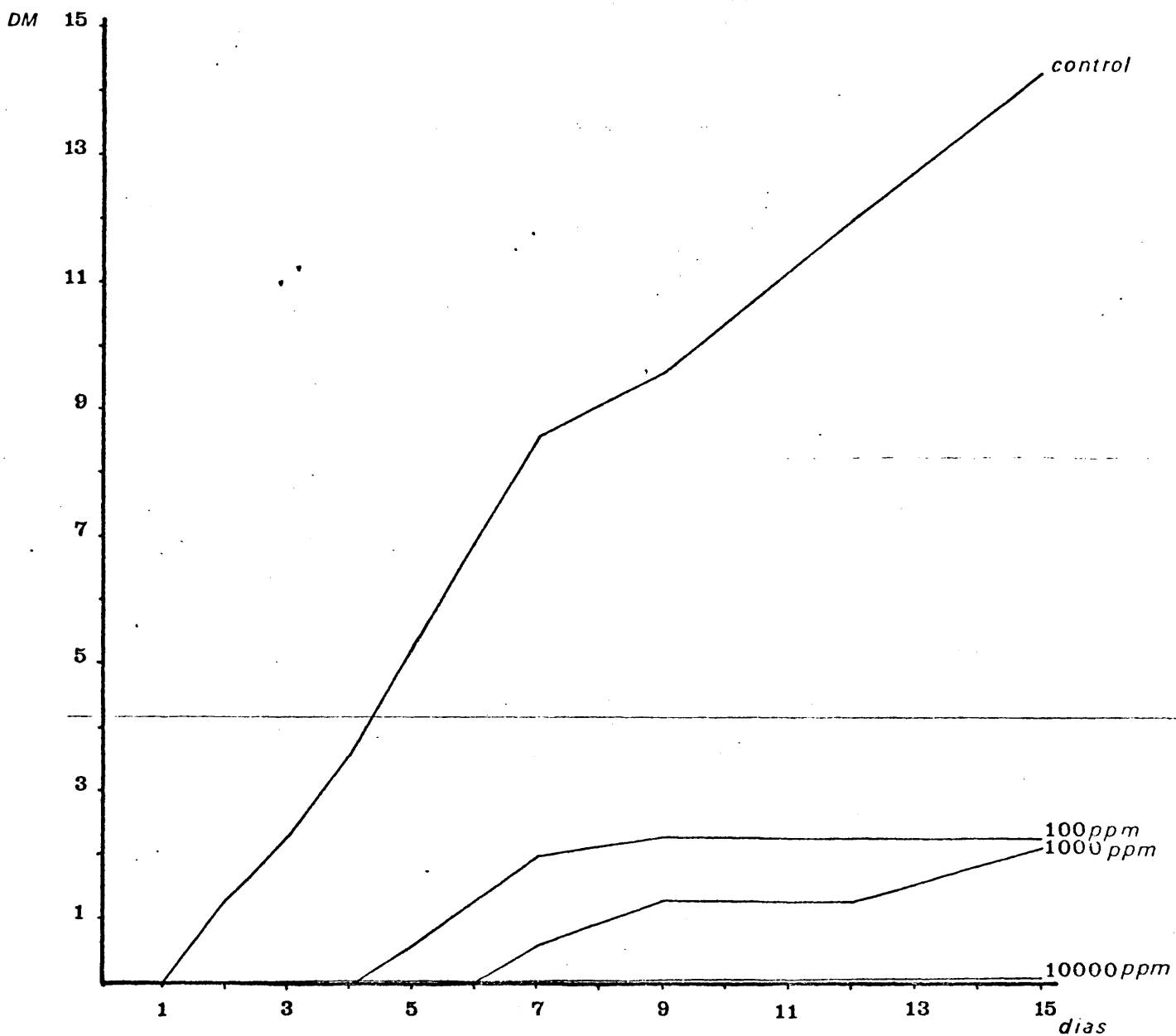


Fig. 59.- Actividad reductora de los nitritos de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Dobane JNQ.

Tabla nº LVII: Influencia del LISSAPOL SNXP sobre la reducción de nitratos por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis	Diluciones																
Control	-1 10	-2 10	-3 10	-4 10	-5 10	-6 10	-7 10	-8 10	-9 10	-10 10	-11 10	-12 10	-13 10	-14 10	-15 10	D.M.	
Días	1	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3	
	2	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	11/3	
	3	+++	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	16/3	
	4	+++	+++	+++	+++	+++	---	++-	---	---	---	---	---	---	---	21/3	
	5	+++	+++	+++	+++	+++	---	+++	+++	---	---	---	---	---	---	24/3	
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	29/3	
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	++-	++-	++-	---	35/3	
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	+++	+++	+++	---	41/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	44/3	
Nº de Mc Crady=332      Nº desnitrif./gr. de lodo=110.10 <sup>14</sup>																	
100 ppm	-1 10	-2 10	-3 10	-4 10	-5 10	-6 10	-7 10	-8 10	-9 10	-10 10						D.M.	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0	
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0	
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0	
	4	---	++-	++-	---	---	---	---	---	---						4/3	
	5	++-	+++	+++	---	---	---	---	---	---						9/3	
	7	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---						11/3	
	9	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---						11/3	
12	+++	+++	+++	++-	++-	+++	+++	---	---	---						18/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	---	---						23/3	
Nº de Mc Crady=320      Nº desnitrif./gr. de lodo=9,5.10 <sup>7</sup>																	
1000 ppm	-1 10	-2 10	-3 10	-4 10	-5 10	-6 10	-7 10	-8 10	-9 10	-10 10						D.M.	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0	
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0	
	3	---	++-	---	---	---	---	---	---	---						1/3	
	4	++-	++-	++-	---	---	---	---	---	---						4/3	
	5	++-	++-	++-	---	++-	++-	++-	---	---						9/3	
	7	++-	+++	+++	++-	++-	++-	++-	---	---						15/3	
	9	++-	+++	+++	++-	++-	++-	++-	---	---						16/3	
12	+++	+++	+++	+++	++-	++-	+++	---	---	---						19/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	---	---						22/3	
Nº de Mc Crady=310      Nº desnitrif./gr. de lodo=4,5.10 <sup>7</sup>																	

Tabla nº LVII (continuación)

10.000 ppm	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	D.M.
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
4	+	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/3
5	++	+	+	---	---	---	---	---	---	---	4/3
7	+++	+++	+++	++	---	++	---	---	---	---	12/3
9	+++	+++	+++	++	---	++	---	---	---	---	12/3
12	+++	+++	+++	+++	---	+++	+	---	---	---	16/3
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	---	---	---	20/3
Nº de Mc Crady=320      Nº desnitrif./gr. de lodo=9,5.10 <sup>6</sup>											

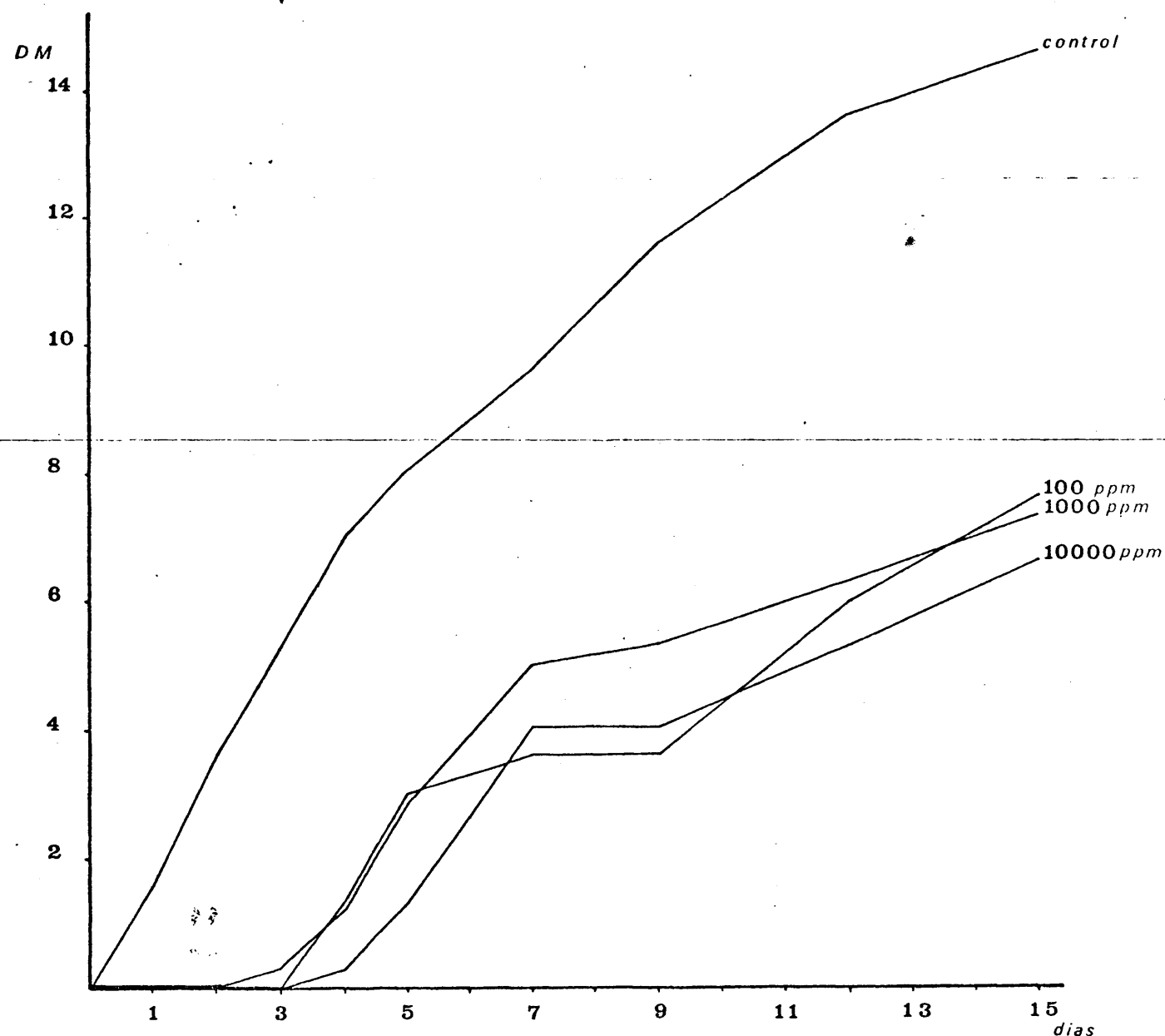


Fig. 60.- Actividad reductora de los nitratos de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Lissapol SNXP



Tabla nº LVIII: Influencia del LISSAPOL SNXP sobre la reducción de nitritos por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															
Control		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>	10 <sup>-14</sup>	10 <sup>-15</sup>	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	++-	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
	3	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	7/3
	4	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	11/3
	5	+++	+++	+++	+++	++-	++-	++-	++-	++-	++-	++-	++-	++-	++-	++-	17/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	26/3
Días	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	29/3
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	36/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	43/3
	Nº de Mc Crady=331					Nº desnitrif./gr. de lodo=45.10 <sup>14</sup>											
100 ppm		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>						D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---					0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---					0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---					0
	4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---					0
	5	++-	++-	++-	---	---	---	---	---	---	---	---					4/3
	7	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---					8/3
Días	9	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---					10/3
	12	+++	+++	+++	++-	++-	+++	---	---	---	---	---					14/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---					21/3
	Nº de Mc Crady=300					Nº desnitrif./gr. de lodo=2,5.10 <sup>7</sup>											
1000 ppm		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>						D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---					0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---					0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---					0
	4	---	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---					1/3
	5	++-	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---					2/3
	7	+++	+++	++-	++-	++-	++-	++-	---	---	---	---					11/3
Días	9	+++	+++	+++	++-	++-	++-	++-	---	---	---	---					12/3
	12	+++	+++	+++	+++	++-	++-	++-	---	---	---	---					17/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	++-	+++	---	---	---	---					19/3
	Nº de Mc Crady=313					Nº desnitrif./gr. de lodo=16.10 <sup>5</sup>											

Tabla nº LVIII (continuación)

10.000 ppm	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
5	+-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/3
7	+++	+++	++	++	---	++	---	---	---	---	12/3
9	+++	+++	++	++	---	++	---	---	---	---	12/3
12	+++	+++	+++	+++	---	+++	---	---	---	---	15/3
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	---	---	---	19/3
Nº de Mc Crady=310      Nº desnitrif./gr. de lodo= $4,5 \cdot 10^6$											

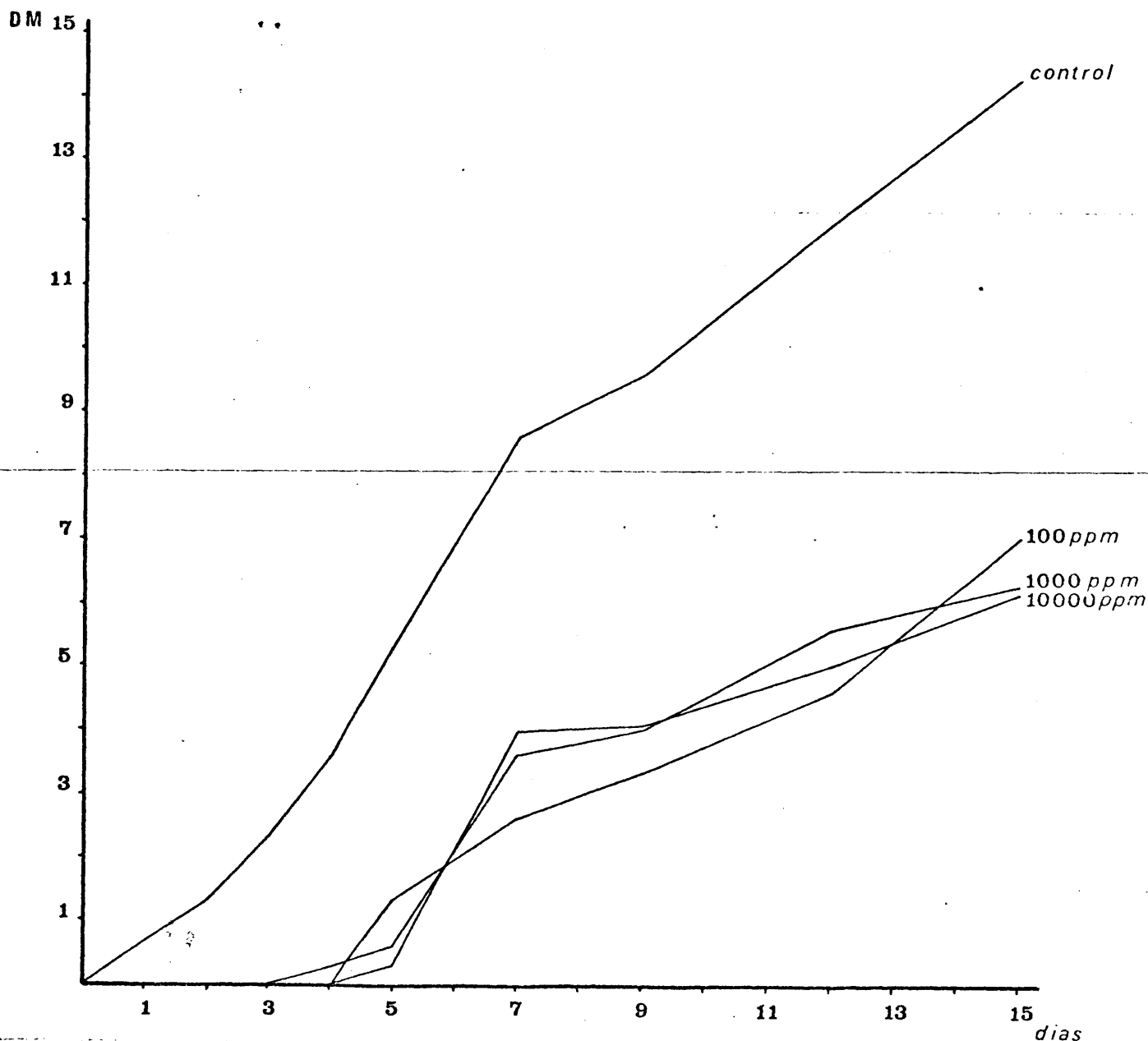


Fig. 61.- Actividad reductora de los nitritos de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Lissapol SXP

Tabla nº LIX: Influencia del LISSAPOL DS4429 sobre la reducción de nitratos por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															
Control		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>	10 <sup>-14</sup>	10 <sup>-15</sup>	D.M.
Días	1	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3
	2	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	11/3
	3	+++	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	16/3
	4	+++	+++	+++	+++	+++	---	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	21/3
	5	+++	+++	+++	+++	+++	---	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	24/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	29/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	++-	++-	++-	---	---	35/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	41/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	44/3
		Nº de Mc Crady=332					Nº desnitrif./gr. de lodo=110.10 <sup>14</sup>										
100 ppm		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>						D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						2/3
	4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						4/3
	5	+++	++-	++-	++-	---	---	---	---	---	---						8/3
	7	+++	+++	++-	+++	++-	---	---	---	---	---						14/3
	9	+++	+++	++-	+++	+++	++-	++-	---	---	---						16/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	++-	++-	++-	---	---						19/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++-	+++	---	---						23/3	
		Nº de Mc Crady=323					Nº desnitrif./gr. de lodo=30.10 <sup>6</sup>										
1000 ppm		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>						D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						1/3
	4	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	---						3/3
	5	++-	+++	---	---	---	---	---	---	---	---						5/3
	7	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---						7/3
	9	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---						7/3
12	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---						7/3	
15	+++	+++	+++	++-	---	---	---	---	---	---						10/3	
		Nº de Mc Crady=322					Nº desnitrif./gr. de lodo=20.10 <sup>2</sup>										

Tabla n<sup>o</sup>LIX (continuación)

10.000 ppm	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
4	---	++	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3
5	---	++	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
7	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3
9	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3
12	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	10/3
15	+++	+++	+++	+++	---	++	---	---	---	---	13/3
N <sup>o</sup> de Mc Crady=301      N <sup>o</sup> desnitrif./gr. de lodo= $4 \cdot 10^4$											

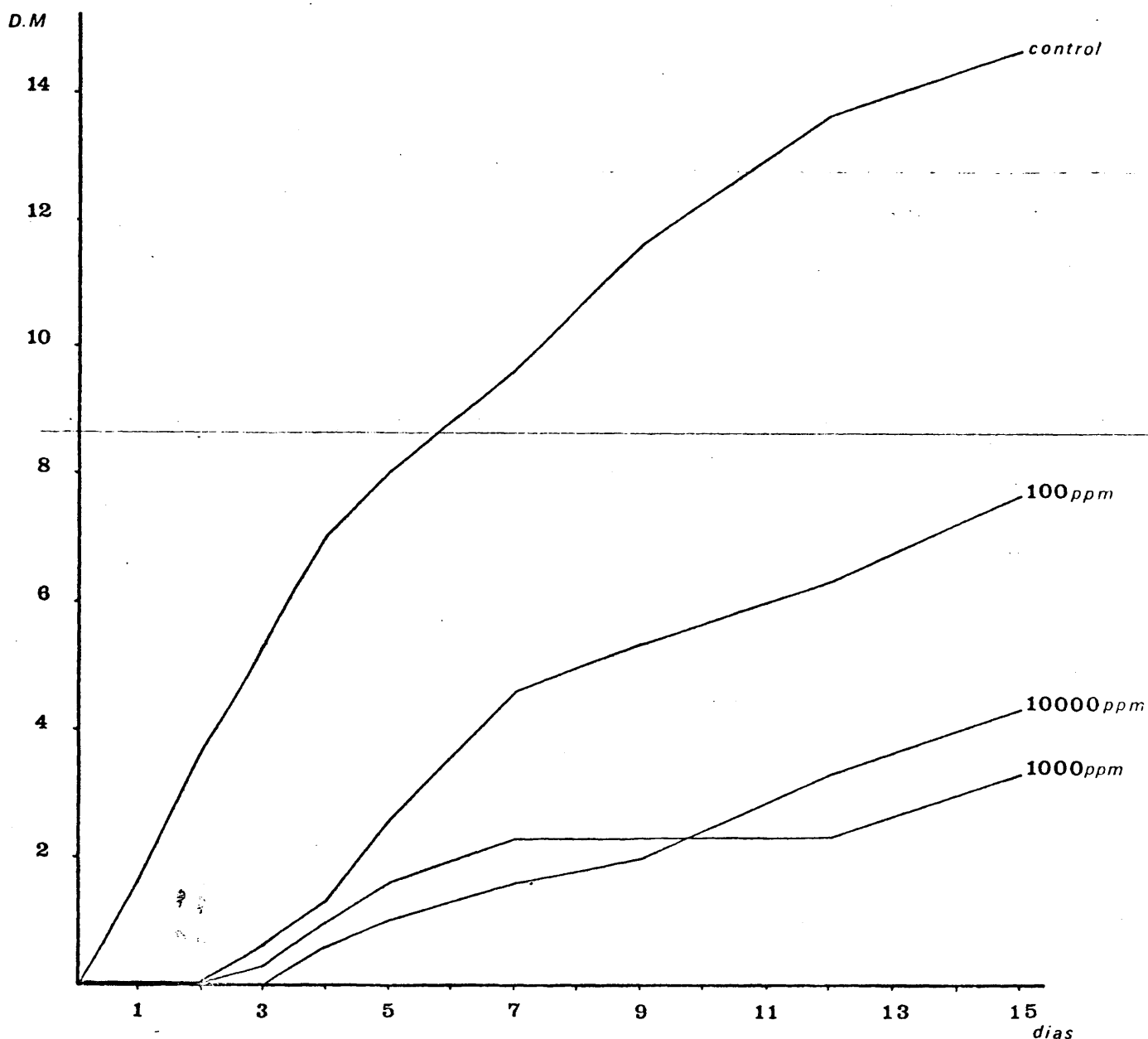


Fig. 62.- Actividad reductora de los nitratos de la microflora de 1 gr. de lodo en

Tabla n.º LX: Influencia del LISSAPOL DS4429 sobre la reducción de nitritos por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones															
Control		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	10 <sup>-11</sup>	10 <sup>-12</sup>	10 <sup>-13</sup>	10 <sup>-14</sup>	10 <sup>-15</sup>	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
	3	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	7/3
	4	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	11/3
	5	+++	+++	+++	+++	+++	---	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	17/3
	7	+++	+++	+++	+++	+++	---	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	21/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	29/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	36/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	43/3
		Nº de Mc Crady=331					Nº desnitrif./gr. de lodo=45.10 <sup>14</sup>										
100 ppm		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>						D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	4	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---						1/3
	5	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---						2/3
	7	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---						6/3
	9	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++						14/3
12	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	16/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	19/3	
		Nº de Mc Crady=313					Nº desnitrif./gr. de lodo=16.10 <sup>5</sup>										
1000 ppm		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>						D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---						0
	4	---	+++	---	---	---	---	---	---	---	---						1/3
	5	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---						2/3
	7	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---						5/3
	9	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---						6/3
12	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	6/3	
15	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	+++	+++	+++	+++	+++	6/3	
		Nº de Mc Crady=300					Nº desnitrif./gr. de lodo=2,5.10 <sup>2</sup>										

Tabla nº LX (continuación)

10.000 ppm	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
4	---	+	---	---	---	---	---	---	---	---	1/3
5	---	+	---	---	---	---	---	---	---	---	1/3
7	++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
9	++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3
12	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	10/3
15	+++	+++	+++	+++	---	++	---	---	---	---	13/3
Nº de Mc Crady=301      Nº desnitrif./gr. de lodo= $4 \cdot 10^4$											

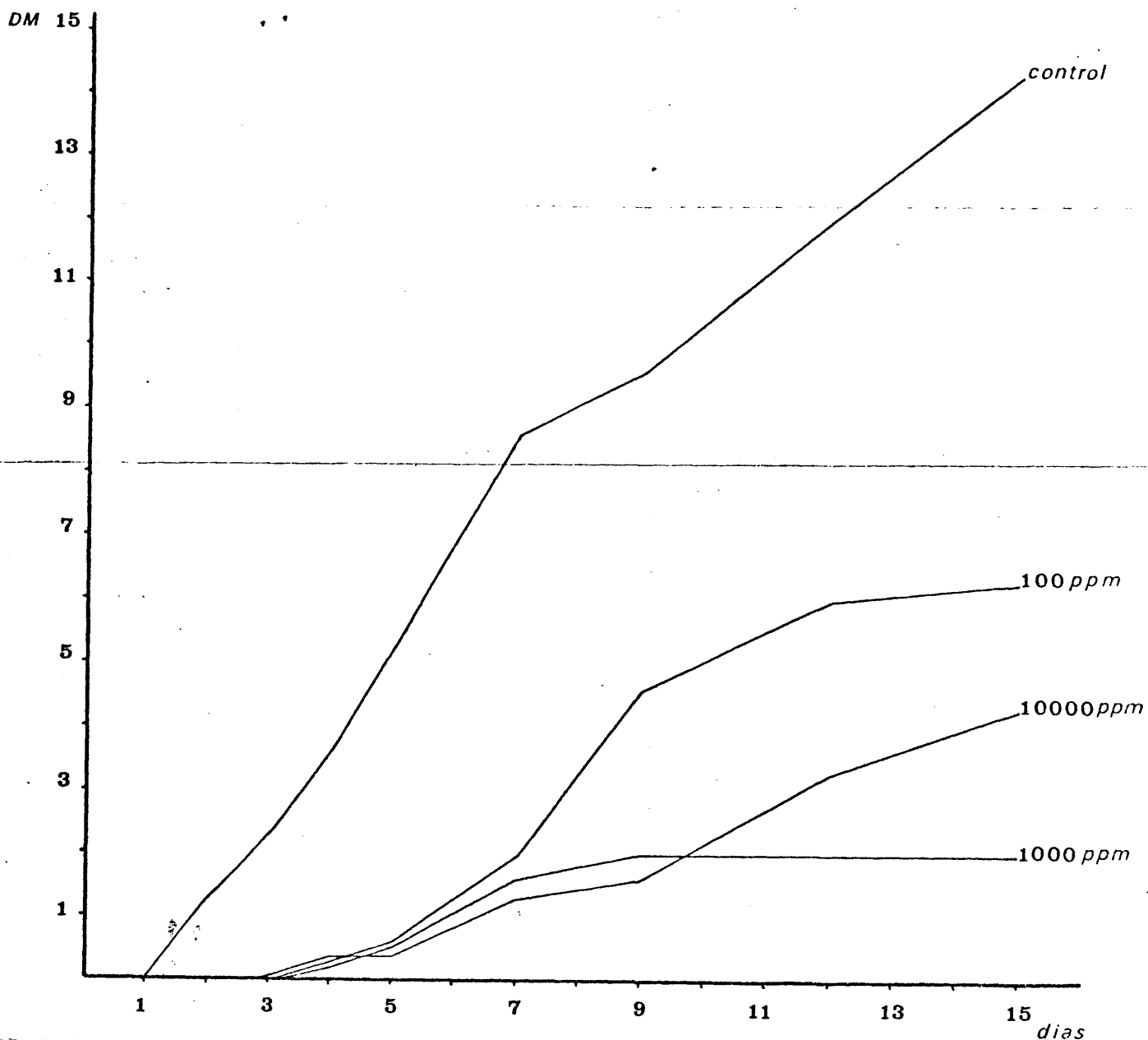


Fig. 63.- Actividad reductora de los nitritos de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Lissapol DS

VIII.3.3. Influencia sobre la fijación libre aerobia del Nitrógeno atmosférico.

Se siguió el método descrito en el apartado 9 del Capítulo del Material y Métodos. Los resultados se expresan en la Tabla LXI y Figura 64.

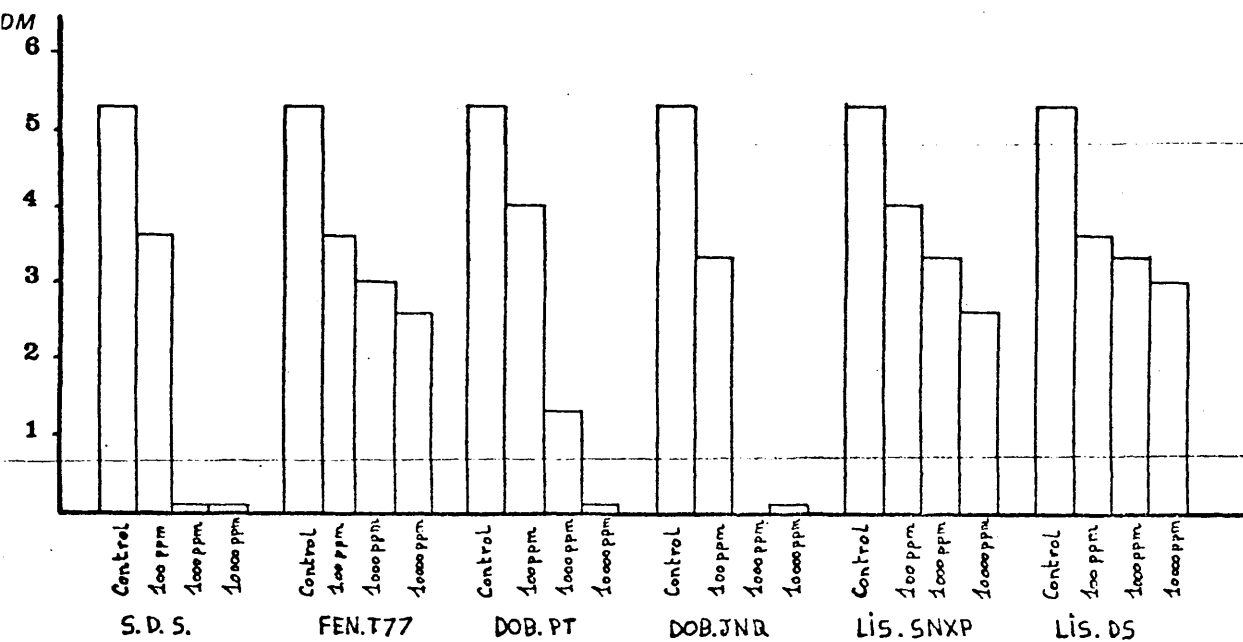


Fig. 64. Influencia de la concentración de tensoactivos sobre la fijación libre aerobia del Nitrógeno atmosférico por los microorganismos de 1 gr. de lodo.

Tabla Nº LXI: Influencia de la concentración de tensoactivos sobre la fijación libre aerobia del N<sub>2</sub> atmosférico por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis de tensoactivo ppm	Diluciones						D.M.	Nº de fijadores /gr. de lodo
	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>		
Control	+++	+++	+++	+++	+++	---	16/3	4,5.10 <sup>5</sup>
S.D.S.	100 ppm	+++	+++	+++	+++	---	11/3	30.10 <sup>2</sup>
	1000 ppm	---	---	---	---	---	0	0
	10.000 ppm	---	---	---	---	---	0	0
Fenopon	100 ppm	+++	+++	+++	+++	---	11/3	9,5.10 <sup>3</sup>
	1000 ppm	+++	+++	+++	---	---	9/3	2,5.10 <sup>3</sup>
	10.000 ppm	+++	+++	+++	---	---	8/3	9,5.10 <sup>2</sup>
Dob. PT	100 ppm	+++	+++	+++	+++	---	12/3	2,5.10 <sup>4</sup>
	1000 ppm	+++	+++	+++	---	---	4/3	2.10
	10.000 ppm	---	---	---	---	---	0	0
Dob. JNQ	100 ppm	+++	+++	+++	+++	---	10/3	4,5.10 <sup>3</sup>
	1000 ppm	---	---	---	---	---	0	0
	10.000 ppm	---	---	---	---	---	0	0
Lis. SNXP	100 ppm	+++	+++	+++	+++	---	12/3	15.10 <sup>3</sup>
	1000 ppm	+++	+++	+++	+++	---	10/3	4,5.10 <sup>3</sup>
	10.000 ppm	+++	+++	+++	---	---	8/3	9,5.10 <sup>2</sup>
Lis. DS	100 ppm	+++	+++	+++	+++	---	11/3	9,5.10 <sup>3</sup>
	1000 ppm	+++	+++	+++	+++	---	10/3	4,5.10 <sup>3</sup>
	10.000 ppm	+++	+++	+++	---	---	9/3	2,5.10 <sup>3</sup>



#### VIII.3.4. Interpretación de resultados.

En la bibliografía consultada no hemos encontrado ninguna cita referente a la influencia que puedan tener los productos tensoactivos sobre los microorganismos implicados en los procesos del ciclo biológico del Nitrógeno.

De las pruebas realizadas por nosotros y anteriormente expuestas se puede deducir :

##### A.- Procesos de Amonificación y Nitrificación :

- El Sodio Dodecil Sulfato produce una disminución del número de microorganismos viables amonificantes de forma gradual de 100 a 10.000 ppm., siendo en la dosis de 1000 ppm. unas  $10^5$  veces inferior con relación al valor obtenido para el control. La actividad amonificante de los microorganismos resulta retrasada casi en la misma medida para todas las dosis, si bien se observa que en las dosis mayores tarda más en comenzar la amonificación.

Para los g'ermenes nitrificantes este producto se muestra como bacteriostático, ya que solo se desarrollaron en la dosis inferior y en algún tubo de la primera dilución.

- Con Fenopon T 77 se produce una inhibición mayor en el desarrollo de los microorganismos amonificantes que en el caso anterior, reduciéndose considerablemente su número de una manera gradual a medida que aumenta la dosis. De igual forma resulta progresivamente disminuída la actividad amonificante reflejada en las curvas.

En cuanto a su acción sobre los nitrificantes, este producto produjo una inhibición total del desarrollo de los microorganismos oxidantes del amonio, mientras

que para los oxidantes de los nitritos solo se desarrollaron en la dosis de 100 ppm. y con un número de viables en 10 veces inferior al control.

- Dobane PT muestra una acción inhibidora muy fuerte del número de viables tanto amonificantes como nitrificantes, de forma que en la dosis de 100 ppm. el número de gérmenes amonificantes que se desarrollaron era inferior en  $10^9$  veces con relación al control. - La actividad amonificante se muestra muy disminuída, pero se ha observado que en la dosis más elevada, - 10.000 ppm., comienza más pronto la producción de amoniaco que en las dosis inferiores.

Los microorganismos nitrificantes resultaron completamente inhibidos por la presencia de este tensoactivo en el medio en todas las concentraciones utilizadas.

- Dobane JNQ produce tambien una reducción muy notable del número de gérmenes amonificantes que en concentración de 1000 ppm. es  $10^{10}$  veces inferior al número obtenido en el control. Además la actividad amonificante resulta retrasada en los cultivos con dosis de 1000 y 10.000 ppm. en los que la producción de amoniaco no comienza hasta después de las primeras 24 horas de incubación.

En cuanto a la nitrificación, los microorganismos oxidantes del amonio no se desarrollaron en dosis superiores a 100 ppm. y aún en esta dosis lo hicieron en número 100 veces inferior al control, mientras que los gérmenes nítricos manifestaron su actividad aunque de forma muy reducida en 100 y 1000 ppm. quedando inhibidos a concentración de 10.000 ppm.

- El tensoactivo no iónico Lissapol SNXP es, de todos los productos utilizados el que en conjunto afecta en

menor grado a estos dos procesos del ciclo del nitrógeno. El número de viables amonificantes resulta igual al del control en los cultivos con 100 ppm. si bien su actividad es más lenta ya que no se detectó amoniaco en el medio hasta después de 24 horas de incubación. En los cultivos con 10.000 ppm ocurrió que, aunque los microorganismos se desarrollaron dando un número aproximado de  $2.5 \cdot 10^5$  según las tablas de Mc. Crady, no encontramos amonificación en ninguno de los tubos lo que creemos que podría ser debido o bien a una baja producción y rápida utilización del amoniaco formado, o bien a que en dicha concentración sea posible el crecimiento de los gérmenes, pero estos resulten imposibilitados para desarrollar su capacidad amonificante.

Respecto a la nitrificación no se ha producido inhibición ni de los gérmenes nitrosos ni de los nítricos, aunque si resultan bastante rebajados en número respecto a los controles.

- Lissapol DS rebaja el número de gérmenes amonificantes así como su actividad biológica en concentraciones de 100 y 1000 ppm., mientras que a 10.000 ppm. ocurre que, como en el caso anterior, se produce un desarrollo de los microorganismos en número aproximado de  $16 \cdot 10^5$  pero en ninguno de los cultivos hay indicios de amonificación.

En los gérmenes nitrificantes resulta inhibida la oxidación del ión amonio por encima de 1000 ppm y la oxidación de los nitritos por encima de 100 ppm.

#### B.- Procesos de Desnitrificación.

- En los cultivos con Sodio Dodecil Sulfato se observa una disminución del número de gérmenes viables reductores de los nitratos y de los nitritos en ra -

zón directa con la concentración de tensoactivos en el medio además de que la actividad reductora resulta retrasada para los microorganismos responsables de la reducción de los nitritos en concentración de 1000 y 10.000 ppm. en que como se puede observar en las curvas correspondientes, solo empieza a verse una desnitrificación total a partir del 3º o 4º días de cultivo.

- Fenopon T 77 produce también un retraso en la actividad biológica tanto de los microorganismos reductores de los nitratos como en la de los que utilizan los nitritos formados hasta su desaparición del medio de cultivo. Sin embargo, en ambos casos, en concentración de 100 ppm se alcanza al final de proceso un número de viables reductores caso igual al del control.

+ Dobane PT inhibe la reducción de los nitratos en concentración de 10.000 ppm. y a 100 y 1000 ppm. rebaja muy notablemente la actividad biológica y el número de viables responsables de esta transformación de nitratos en nitritos. En cuanto al desarrollo y actividad de los gérmenes que utilizan y reducen los nitritos formados, queda inhibido ya a 1000 ppm. Hemos observado que en esta dosis de 1000 ppm. en algunos de los cultivos comienza la reducción de nitratos, puesto que se detecta en los tubos la presencia de nitritos, y en los últimos días estos nitritos comienzan a desaparecer, pero no se llega a una desnitrificación total.

- Dobane JNQ tiene un efecto parecido al anterior, inhibiendo tanto la reducción de los nitratos como la de los nitritos cuando se utiliza en concentración de 10.000 ppm. En 100 y 1000 ppm. rebaja considerablemen-

te el número de viables desnitrificantes además de producir un marcado retraso en la actividad reductora de esos gérmenes ya que la reducción de nitratos no comienza hasta los días 3 ó 4 de cultivo y la desaparición de los nitritos no se hace patente hasta el 4º o 6º día. Por otra parte, en los cultivos con dosis de 1000 y 10.000 ppm. hemos observado que igual que en el caso anterior comienza la desnitrificación en algunos tubos, pero parece quedar bloqueada y no llega a ser total.

- Lissapol DS rebaja tanto la actividad reductora como el número de viables, pero no llega a producir inhibición total en ninguna dosis.

- Lissapol SNXP es en conjunto el tensoactivo que demuestra una influencia menos acusada sobre este proceso, como también ocurría con la amonificación y nitrificación. Las curvas de actividad desnitrificante correspondientes a los cultivos con las tres dosis de este producto resultan bastante próximas entre sí con lo que parece ser que no existe una diferencia marcada entre las dosis mínima y máxima en lo referente a la velocidad de reducción de los nitratos o de los nitritos.

#### C.- Fijación libre aerobia del Nitrógeno atmosférico.

El número de gérmenes viables que fijan libremente el Nitrógeno atmosférico resulta bastante disminuido con la presencia de tensoactivos en el medio. Parecen -- ejercer un efecto más acusado los aniónicos que los -- no iónicos ya que el proceso resulta inhibido en concentración de 1000 ppm. de Sodio Dodecil Sulfato y -- Dobane JNQ y con 10.000 ppm. de Dobane PT, mientras -- que ninguna de las dosis de los Lissapol SNXP y DS -- llega a producir una reducción tan fuerte.

En conjunto, podemos decir que los procesos del ciclo del Nitrógeno estudiados experimentan una reducción muy considerable cuando los microorganismos responsables de su consecución se desarrollan en presencia de tensoactivos.

Hemos visto que los tensoactivos tienen una interacción con las proteínas en general, y de acuerdo con esto, también tendrán interacción con aquellas proteínas especiales que poseen una actividad espectacular de uno u otro tipo cuyos resultados a menudo se pierden reversible o irreversiblemente. Glassman (1951) - estudió una enzima, la lisozima, consiguiendo su inactivación completa aunque se requerían concentraciones bastante elevadas de tensoactivo y algo menores para los aniónicos y catiónicos que para los no iónicos. Parece que la inactivación es consecuencia del bloqueo de ciertos puntos por las moléculas de tensoactivo y el resultado de desplegamiento o disociación y quizás la mejor evidencia de ello ha sido presentada por Gorin (1967) indicando que el Sodio Dodecil Sulfato disociaba la ureasa purificada ( p.m.480.000 ) en subunidades de peso molecular alrededor de 60.000 que se asociaban con aproximadamente igual peso de Sodio Dodecil Sulfato. Las observaciones se hicieron a una concentración de ureasa de unas 5.000 ppm. con Sodio Dodecil Sulfato entre 2.000 y 20.000 ppm. La ureasa perdía su actividad enzimática irreversiblemente.

Numerosas enzimas son obstruidas en su actividad catalítica por la presencia de tensoactivos aniónicos a concentración entre 100 y 1000 ppm. y varios investigadores han observado un incremento de inhibición con los radicales hidrófobos de mayor longitud (Mathew 1954 sobre hialuronidasa, Czok, 1968 sobre fosfatasas e invertasa ). Según esto, nosotros pensamos que, aparte de las alteraciones que puedan tener lugar en algunas de las estructuras bacterianas como consecuencia de la presencia de tensoactivos en el medio, es posible que la reducción o inhibición observada en los procesos de amonificación, nitrificación, desnitrificación y fijación libre aerobia fuera también debida a interacciones de dichos tensoactivos con

algún tipo de enzimas de las que intervienen en estos aspectos del ciclo del Nitrógeno.

Por otra parte, encontramos que la acción inhibidora de los tensoactivos sobre los microorganismos que intervienen en el - Ciclo del Nitrógeno es mucho más fuerte en conjunto que la de otros productos considerados como posible causa de polución en los sue - los. Así, Mendoza, C. (1971) ha hecho un estudio semejante al rea - lizado por nosotros utilizando varios Pesticidas frecuentes en la práctica agrícola y de ellos solo uno, Rogor producía una inhibi - ción en la desnitrificación cuando era utilizado en concentracio - nes superiores a 1000 ppm, y otro, el carbamato sevin, rebajaba - el número de gérmenes viables por encima de 10 ppm, pero sin lle - gar a inhibir ninguno de los procesos estudiados. El resto, sólo - en dosis muy altas afectaban ligeramente dichos procesos.

#### VIII.4. Influencia sobre algunos aspectos del Ciclo del Carbono.-

##### VIII.4.1. Influencia sobre la Amilolisis.

Se siguió el método descrito en el apartado 10 del Capítulo de Material y Métodos. Los resultados se expresan en las Tablas LXII a LXVII. y figuras 65 a 71.

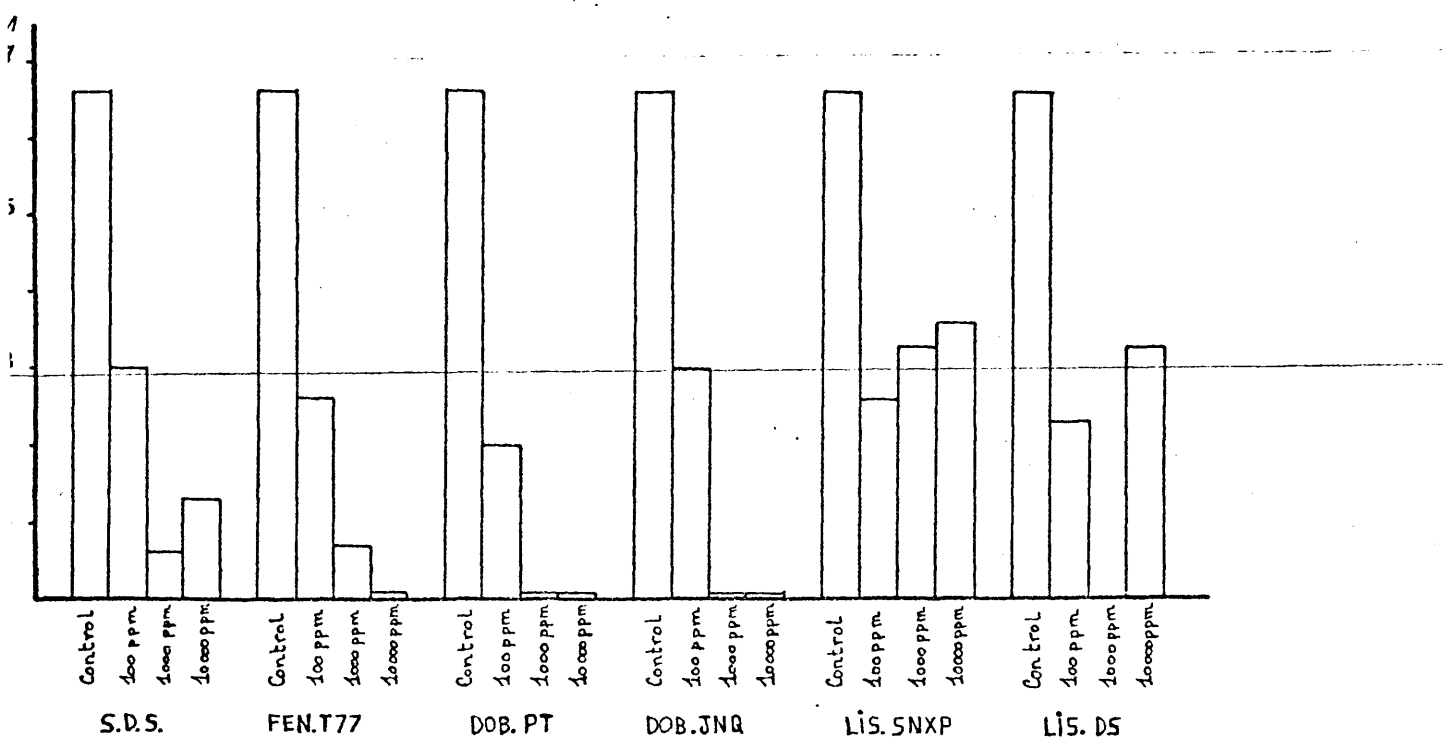


Fig. 65. Influencia de la concentración de tensoactivos sobre la Amilolisis realizada por los microorganismos de 1 gr. de lodo.



Tabla nº LXII: Influencia del SODIO DODECIL SULFATO sobre la amilólisis realizada por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones										
Control	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0	
	2	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3	
	3	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	7/3	
	4	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	8/3	
	5	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	8/3	
	7	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	9/3	
	9	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	11/3	
	12	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	16/3	
15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	20/3		

Nº de Mc Creay=320

Nº amilolíticos/gr. de lodo= $9,5 \cdot 10^6$

100 m		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/3
5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3
7	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3
9	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	9/3
12	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	9/3
15	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	9/3

Nº de Mc Crady=321

Nº amilolíticos/gr. de lodo= $15 \cdot 10^2$

1000 pm		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
7	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
9	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
12	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
15	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3

Nº de Mc Crady=200

Nº amilolíticos/gr. de lodo= $0,9 \cdot 10$

Tabla nº LXII (continuación)

10.000 ppm	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
7	---+	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/3
9	---+	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/3
12	---+	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/3
15	+++	---+	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
Nº de Mc Crady=310      Nº amilolíticos/gr. de lodo=4,5.10											

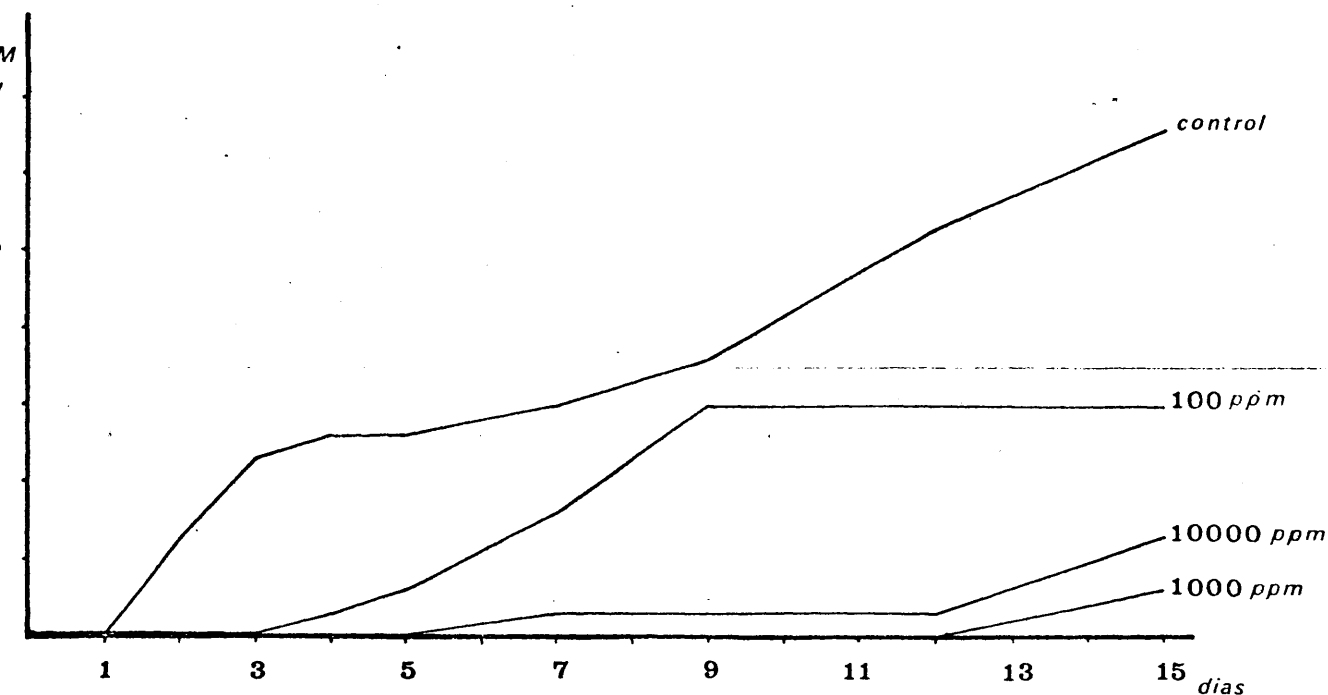


Fig. 66.- Actividad amilolítica de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Sodio Dodecil Sulfato

Tabla nº LXIII: Influencia del FENOPON T 77 sobre la amilolisis realizada por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones										D.M.
Control		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	+++	+	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
	3	+++	+++	+	---	---	---	---	---	---	---	7/3
	4	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
	5	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
	7	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	9/3
	9	+++	+++	+++	+	+	---	---	---	---	---	11/3
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+	---	---	---	---	16/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	20/3
		Nº de Mc Crady=320					Nº amilolíticos/gr. de lodo=9,5.10 <sup>6</sup>					
100 ppm		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/3
	4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3
	5	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
	7	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
	9	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
	12	+++	+	+	---	---	---	---	---	---	---	7/3
	15	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
		Nº de Mc Crady=323					Nº amilolíticos/gr. de lodo=30.10					
1000 ppm		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	7	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	9	+	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/3
	12	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3
	15	++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3
		Nº de Mc Crady=200					Nº amilolíticos/gr. de lodo=0,9.10					

NOTA: En los cultivos con dosis de 10.000 ppm no se detectó amilolisis

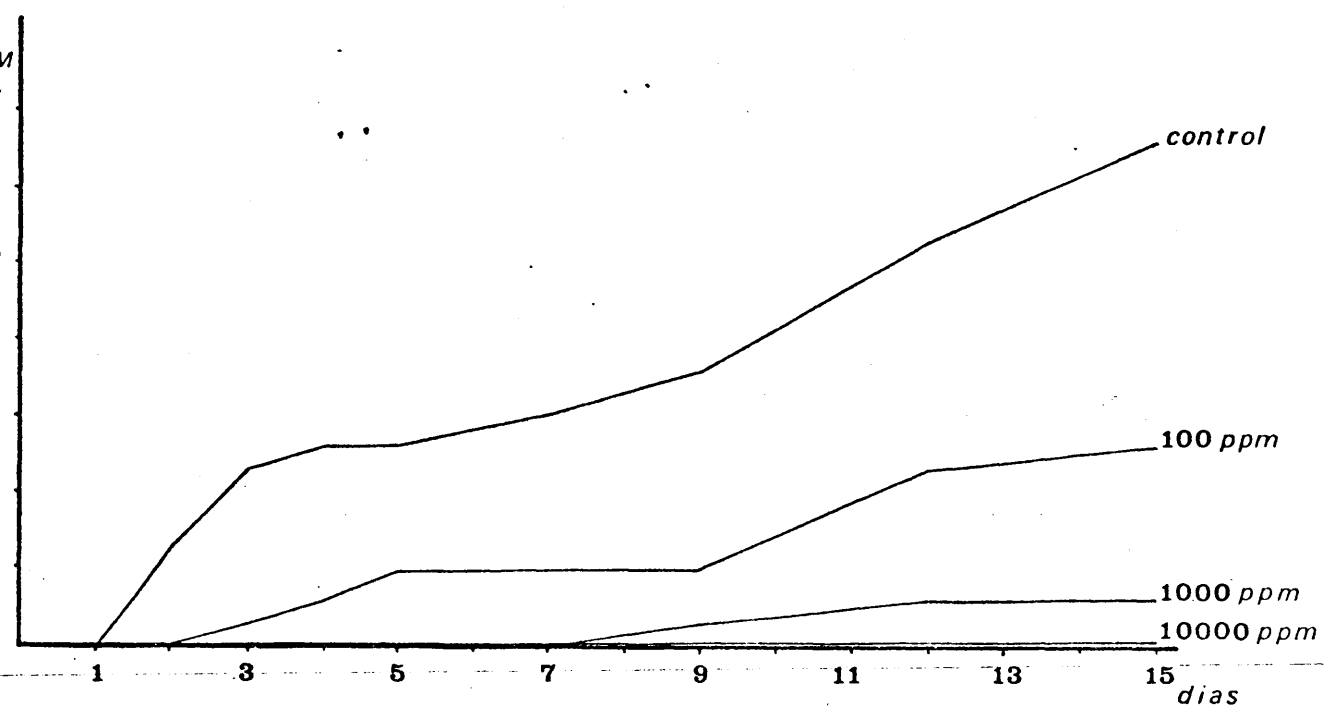


Fig. 67.- Actividad amilolítica de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Fenopon T 77.

Tabla nº LXIV: Influencia del DCBANE PT sobre la amilolisis realizada por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones										D.M.
Control		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	+++	++-	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
	3	+++	+++	+-	---	---	---	---	---	---	---	7/3
	4	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	9/3
	5	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
	7	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	9/3
	9	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	11/3
	12	+++	+++	+++	+++	+++	++	---	---	---	---	10/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	---	---	---	20/3
	Nº de Mc Crady=320      Nº amilolíticos/gr. de lodo=9,5.10 <sup>6</sup>											
100 ppm		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/3
	4	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
	5	+++	+-	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
	7	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3
	9	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3
	12	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3
	15	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3
	Nº de Mc Crady=300      Nº amilolíticos/gr. de lodo=2,5.10 <sup>2</sup>											

NOTA: En las dosis de 1000 y 10.000 ppm no se detectó amilolisis en ningún cultivo.

Tabla nº LXV: Influencia del DOBANE JNQ sobre la amilolisis realizada por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones										
Control		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
Días	1.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	+++	+	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
	3	+++	+++	+-	---	---	---	---	---	---	---	7/3
	4	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
	5	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
	7	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	9/3
	9	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	11/3
	12	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	16/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	20/3
		Nº de Mc Crady=320					Nº amilolíticos/gr. de lodo= $9,5 \cdot 10^6$					
1000 ppm		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	7	+	+	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3
	9	++	+	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
	12	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	7/3
	15	+++	+++	++	++	---	---	---	---	---	---	9/3
		Nº de Mc Crady=321					Nº amilolíticos/gr. de lodo= $15 \cdot 10^2$					

NOTA: En los cultivos con dosis de 1000 y 10.000 ppm no se detectó amilolisis

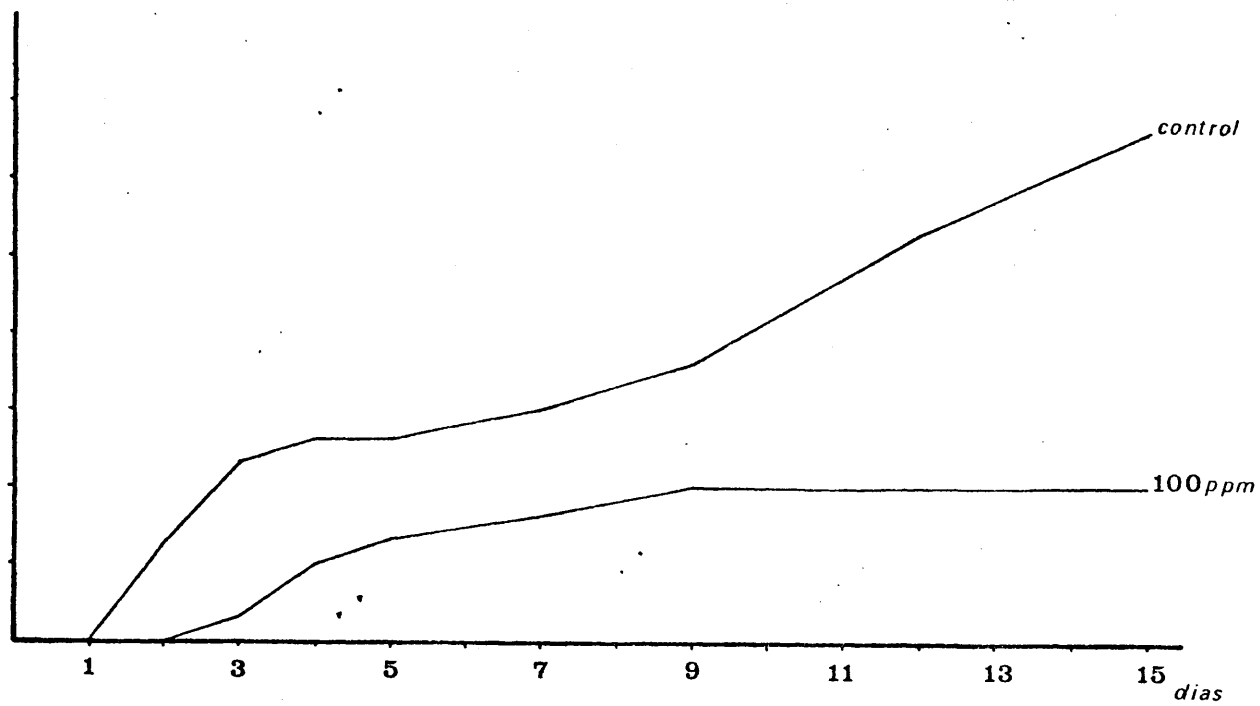


Fig. 68.- Actividad amilolítica de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Dobane PT.

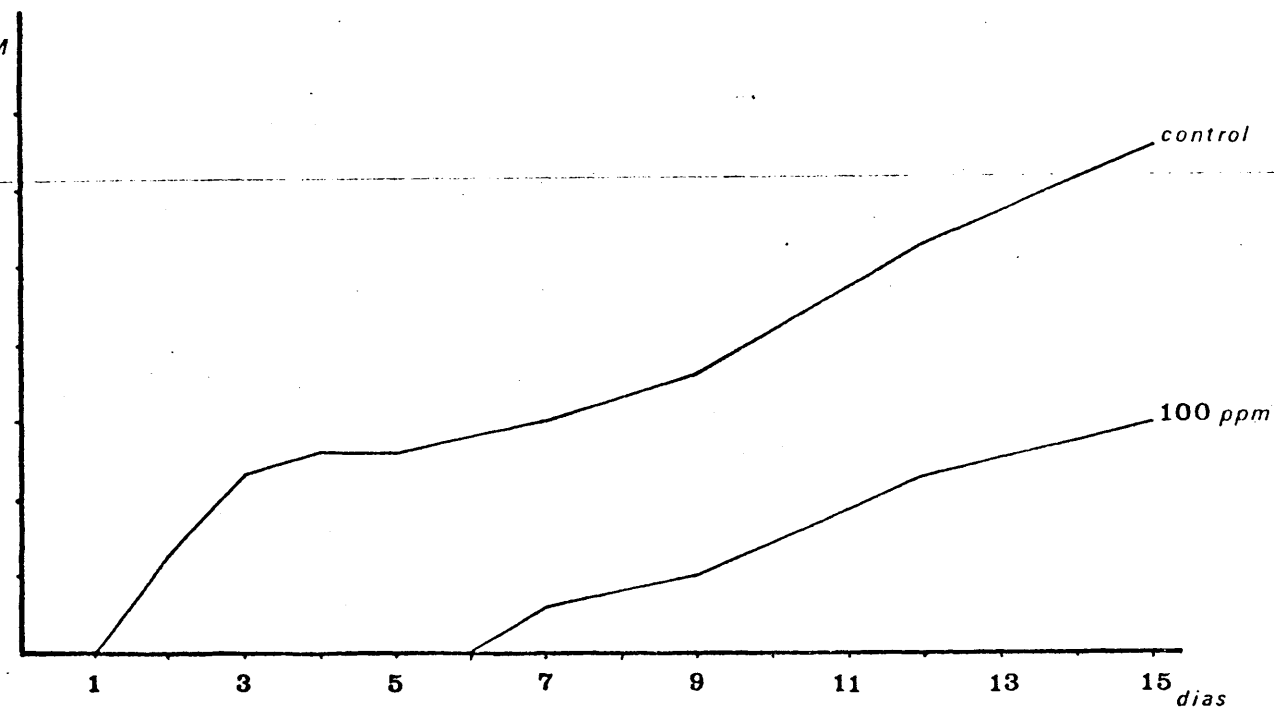


Fig. 69.- Actividad amilolítica de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Dobane JNQ.

Tabla nº LXVI: Influencia del LISSAPOL SNXP sobre la amilolisis realizada por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones										
Control		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
	3	+++	+++	+-	---	---	---	---	---	---	---	7/3
	4	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
	5	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
	7	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	9/3
	9	+++	+++	+++	---	++	+-	---	---	---	---	11/3
	12	+++	+++	+++	+++	+++	+-	---	---	---	---	16/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	---	---	---	20/3
		Nº de Mc Crady=320					Nº amilolíticos/gr. de lodo= $9,5 \cdot 10^6$					
100 ppm		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	1/3
	4	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
	5	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
	7	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3
	9	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
	12	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
	15	+++	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
		Nº de Mc Crady=320					Nº amilolíticos/gr. de lodo= $9,5 \cdot 10^2$					
1000 ppm		$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	4	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
	5	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3
	7	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3
	9	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3
	12	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	6/3
	15	+++	+++	++	++	++	---	---	---	---	---	10/3
		Nº de Mc Crady=322					Nº amilolíticos/gr. de lodo= $20 \cdot 10^2$					



Tabla nº LXVI (continuación)

10.000 ppm	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
Días											
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3
3	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
4	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
5	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3
7	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
9	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
12	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	8/3
15	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	11/3
Nº de Mc Crady=311      Nº amilolíticos/gr. de lodo= $7,5 \cdot 10^3$											

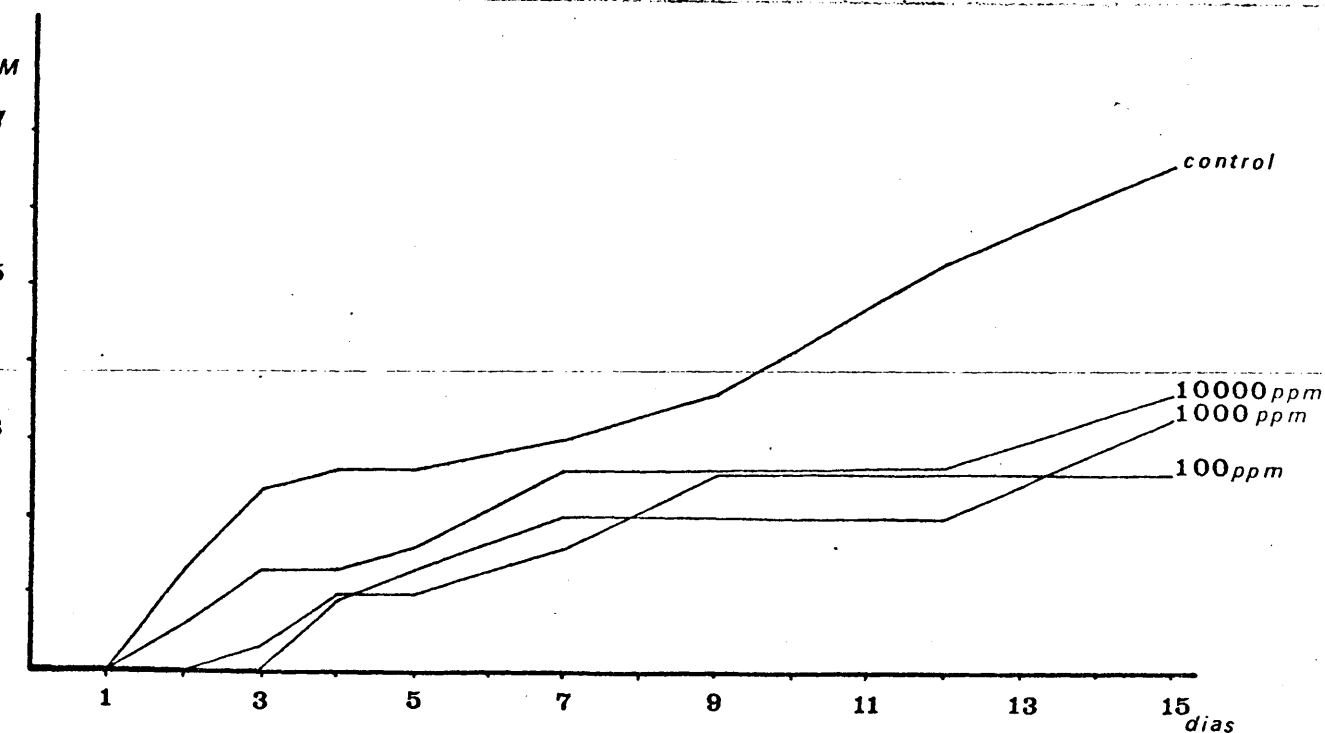


Fig. 70.- Actividad amilolítica de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia d Lissapol SNXP

Tabla nº LXVII: Influencia del LISSAPOL DS sobre la amilolisis realizada por los microorganismos de un gramo de lodo

Dosis		Diluciones										
Control		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
	3	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	7/3
	4	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	8/3
	5	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	8/3
	7	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	9/3
	9	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	11/3
	12	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	---	16/3
	15	+++	+++	+++	+++	+++	+++	---	---	---	---	20/3
		Nº de Mc Crady=320					Nº amilolíticos/gr. de lodo=9,5.10 <sup>6</sup>					
100 ppm		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	7	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	9	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
	12	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	4/3
	15	+++	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	7/3
		Nº de Mc Crady=310					Nº amilolíticos/gr. de lodo=4,5.10 <sup>2</sup>					
1000 ppm		10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-6</sup>	10 <sup>-7</sup>	10 <sup>-8</sup>	10 <sup>-9</sup>	10 <sup>-10</sup>	D.M.
Días	1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	5	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	7	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
	9	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3
	12	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3
	15	+++	---	---	---	---	---	---	---	---	---	3/3
		Nº de Mc Crady=300					Nº amilolíticos/gr. de lodo=2,5.10					

Tabla nº LXVII (continuación)

10.000 ppm	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$	$10^{-7}$	$10^{-8}$	$10^{-9}$	$10^{-10}$	D.M.
1	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
2	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
3	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
4	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	0
5	+-	+-	---	---	---	---	---	---	---	---	2/3
7	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3
9	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	5/3
12	+++	++	---	---	---	---	---	---	---	---	8/3
15	+++	+++	++	++	---	---	---	---	---	---	10/3
Nº de Mc Crady=322      Nº amilolíticos/gr. de lodo= $20 \cdot 10^2$											

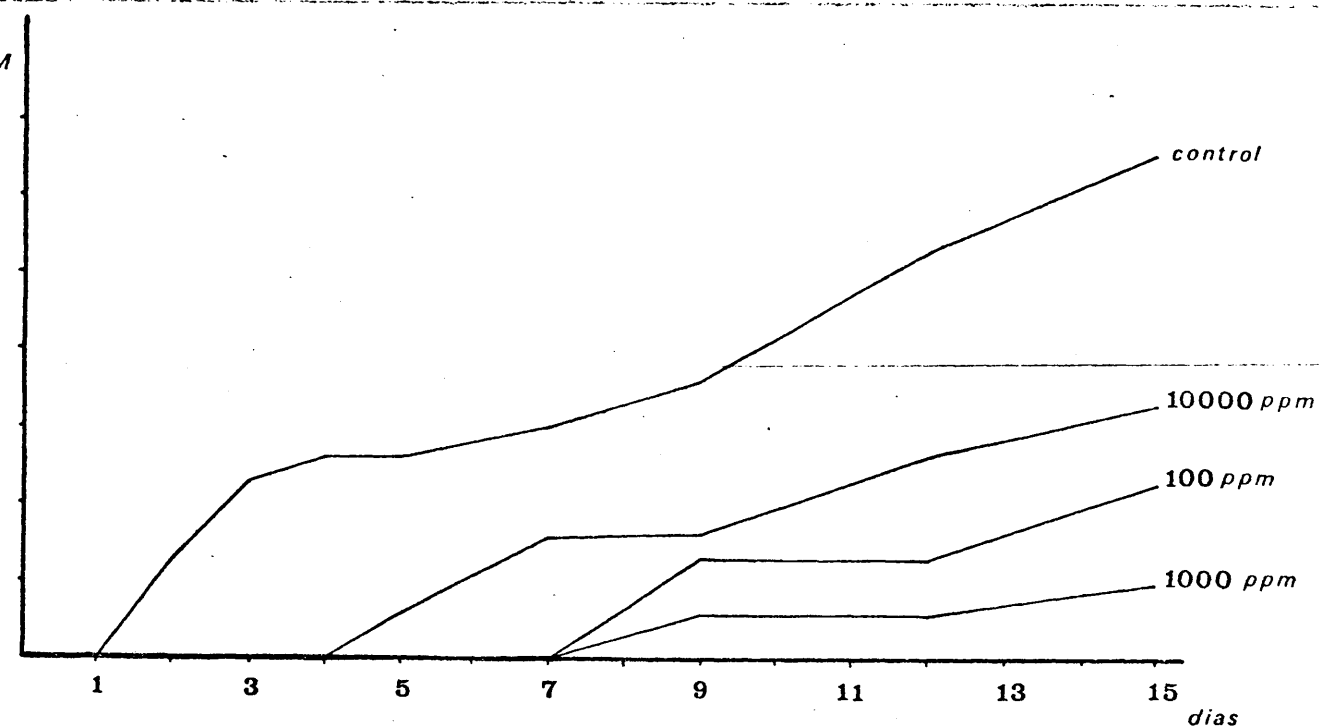


Fig. 71.- Actividad amilolítica de la microflora de 1 gr. de lodo en presencia de Lissapol DS

#### VIII.4.2. Influencia sobre la Celulolisis Aerobia.

Se siguió el método descrito en el Apartado 10 del Capítulo de Material y Métodos. Los resultados se expresan en la Tabla LXVIII y Figura 72.

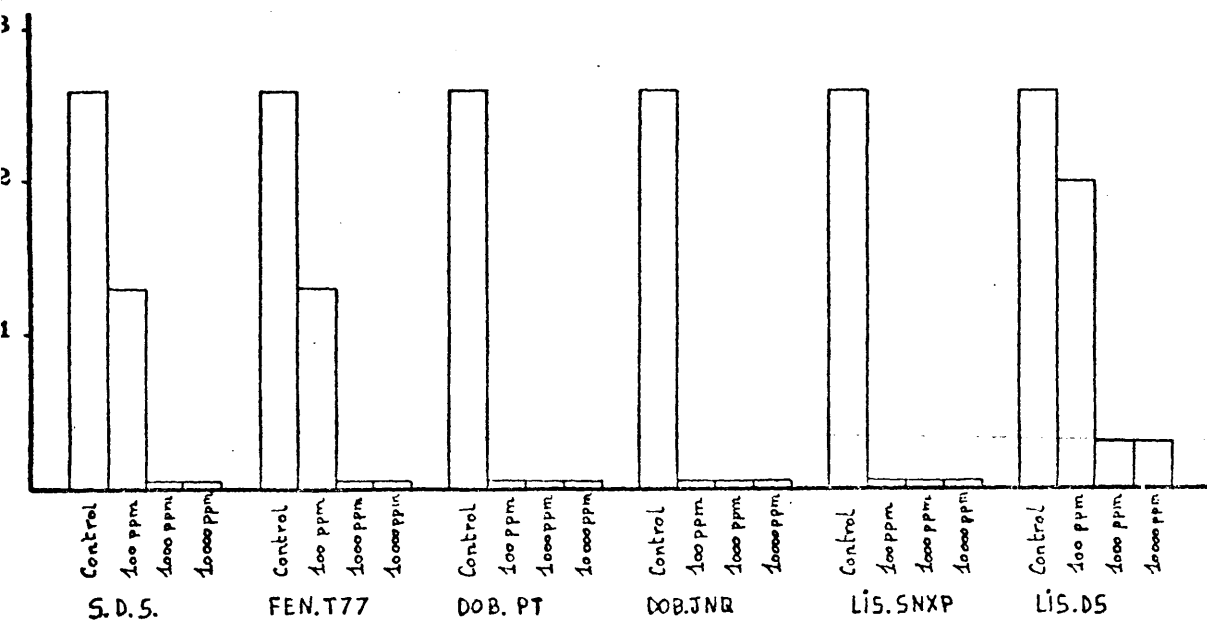


Figura 72. Influencia de la concentración de tensoactivos sobre la Celulolisis Aerobia por los microorganismos de 1 gr. de lodo.

39  
77  
4

Tabla nº LXVIII: Influencia de la concentración de tensoactivos sobre los microorganismos celulolíticos aerobios de un gramo de lodo

Dosis de ten- sactivo ppm	Diluciones						D.M.	Nº celulolíticos /gr. de lodo
	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$		
Control	+++	+++	++-	---	---	---	8/3	$9,5 \cdot 10^2$
S.D.S.	100ppm	+++	++-	---	---	---	4/3	$4,5 \cdot 10$
	1000ppm	---	---	---	---	---	0	0
	10.000ppm	---	---	---	---	---	0	0
Fenopon	100ppm	+++	++-	---	---	---	4/3	$4,5 \cdot 10$
	1000ppm	---	---	---	---	---	0	0
	10.000ppm	---	---	---	---	---	0	0
Dob. PT	100ppm	---	---	---	---	---	0	0
	1000ppm	---	---	---	---	---	0	0
	10.000ppm	---	---	---	---	---	0	0
Dob. JNQ	100ppm	---	---	---	---	---	0	0
	1000ppm	---	---	---	---	---	0	0
	10.000ppm	---	---	---	---	---	0	0
Lis. SNXPI	100ppm	---	---	---	---	---	0	0
	1000ppm	---	---	---	---	---	0	0
	10.000ppm	---	---	---	---	---	0	0
Lis. DS	100ppm	+++	++-	++-	---	---	6/3	$15 \cdot 10$
	1000ppm	++-	---	---	---	---	1/3	$0,4 \cdot 10$
	10.000ppm	++-	---	---	---	---	1/3	$0,4 \cdot 10$

#### VIII.4.3. Interpretación de resultados.

A.- En lo referente al proceso de la Amilolisis, hemos observado que todos los tensoactivos utilizados rebajan considerablemente el número de gérmenes viables amilolíticos que alcanza valores muy inferiores a los del control ya en la dosis de 100 ppm. Por encima de esta dosis se produce una inhibición tanto del crecimiento como del ataque del almidón con Dobane PT, mientras que con Dobane JNQ a 1000 ppm. se ha detectado crecimiento en algunos tubos, pero solo se realiza una amilolisis parcial ya que hemos encontrado que se destruye la amilosa, pero no la amilopeptina. Este mismo producto, así como el Fenopon T 77 a 10.000 ppm. inhiben el proceso.

Además, la actividad amilolítica de los microorganismos resulta bastante retrasada y así como en el control comienza a desaparecer el almidón a partir de las 24 horas de cultivo, en presencia del tensoactivo lo hace entre las 48 horas y el 7º día, según la concentración y el tipo de producto, de forma que aún en los casos en que el proceso no es inhibido, existe un periodo de latencia o de adaptación mucho más amplio de lo normal. Es posible que esto pueda deberse al hecho de que la presencia de tensoactivos en el medio dificulte, y a veces impida la síntesis de alguna o algunas de las enzimas necesarias para comenzar el ataque a la molécula de almidón, aunque también podría suceder que las enzimas ya sintetizadas resulten inactivadas por el tensoactivo como hemos dicho en los trabajos de algunos investigadores citados en la interpretación de los resultados obtenidos del ciclo del Nitrógeno en el apartado anterior.

B.- En cuanto a la Celulolisis aerobia resulta inhibida para todas las dosis de Dobane PT, Dobane JNQ y Lissapol SNXP, y para dosis superiores a 100 ppm. de Sodio Dodecil Sulfato, Fenopon T 77 y Lissapol DS. La concentración mínima de estos tres últimos tensoactivos reduce el número de viables celulolíticos en unas 20 veces con relación al valor obtenido para el control.

#### ALGUNAS CONSIDERACIONES ECOLOGICAS.-

A lo largo de los estudios que, con relación a algunos procesos de los Ciclos del Nitrógeno y del Carbono, hemos realizado durante el desarrollo de este trabajo, hemos puesto de manifiesto que los productos tensoactivos tienen una marcada influencia en los microorganismos que llevan a cabo dichos procesos, puesto que su actividad queda muy disminuída y en muchas ocasiones inhibida.

Creemos que es de destacar este hecho, ya que es fácil que en la Naturaleza se alcancen concentraciones de estos productos al nivel de las utilizadas por nosotros, y estas, como hemos visto, entrañan un cierto peligro para el equilibrio biológico del suelo. Así, es un hecho suficientemente difundido, que el uso masivo de los detergentes de síntesis, está produciendo acumulación de espumas y residuos en los ríos y por consiguiente en las aguas de riego de donde pasarían a los suelos. Aunque estos productos sean biodegradables, su destrucción es lenta y por ello es fácil que lleguen a acumularse con lo que dificultan o incluso impiden procesos microbianos tan importantes desde el punto de vista ecológico como son amonificación, nitrificación, desnitrificación y fijación libre aerobia. Puesto que forman parte de un ciclo que, como tal, debe realizarse de forma continua y su interrupción causaría, en un plazo más o menos largo, la destrucción del suelo -- como entidad biológica.

Queremos por tanto resaltar la importancia que puede tener para el futuro el conocimiento profundo de la influencia de los detergentes de síntesis sobre los microorganismos y más concretamente las bacterias que intervienen en el Ciclo del Nitrógeno, y a ello dedicaremos nuestra línea de investigación ya que además nos hemos encontrado con que no ha sido objeto de estudio por otros investigadores y nos parece un problema de gran interés.

VIII.5. Acción de los microorganismos sobre los tensoac-  
tivos utilizados.

Se hicieron cultivos en agitación según el método descrito en el apartado 11 del Capítulo de Material y Métodos. Los resultados de los espectros de infrarrojos se expresan en las figuras - 73 a 87.



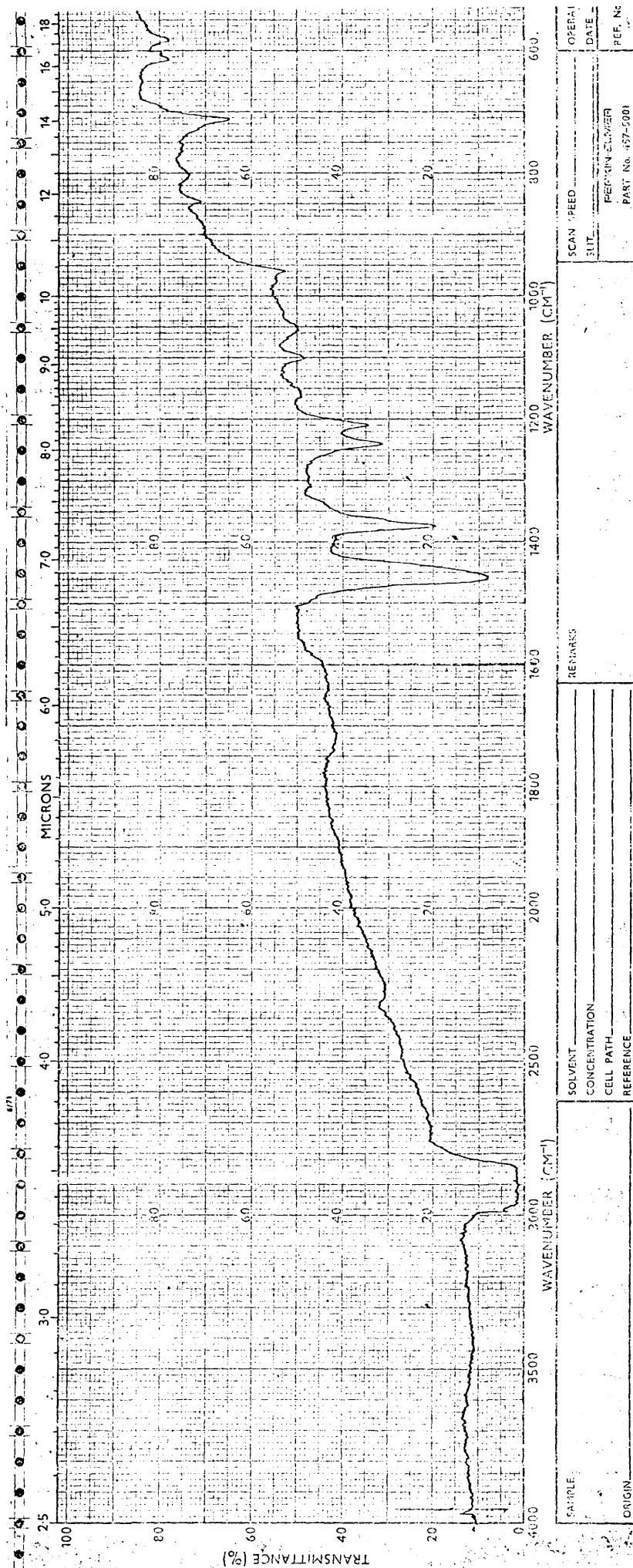


Figura nº 73.- Espectro IR del Sodio Dodecil Sulfato. Control.

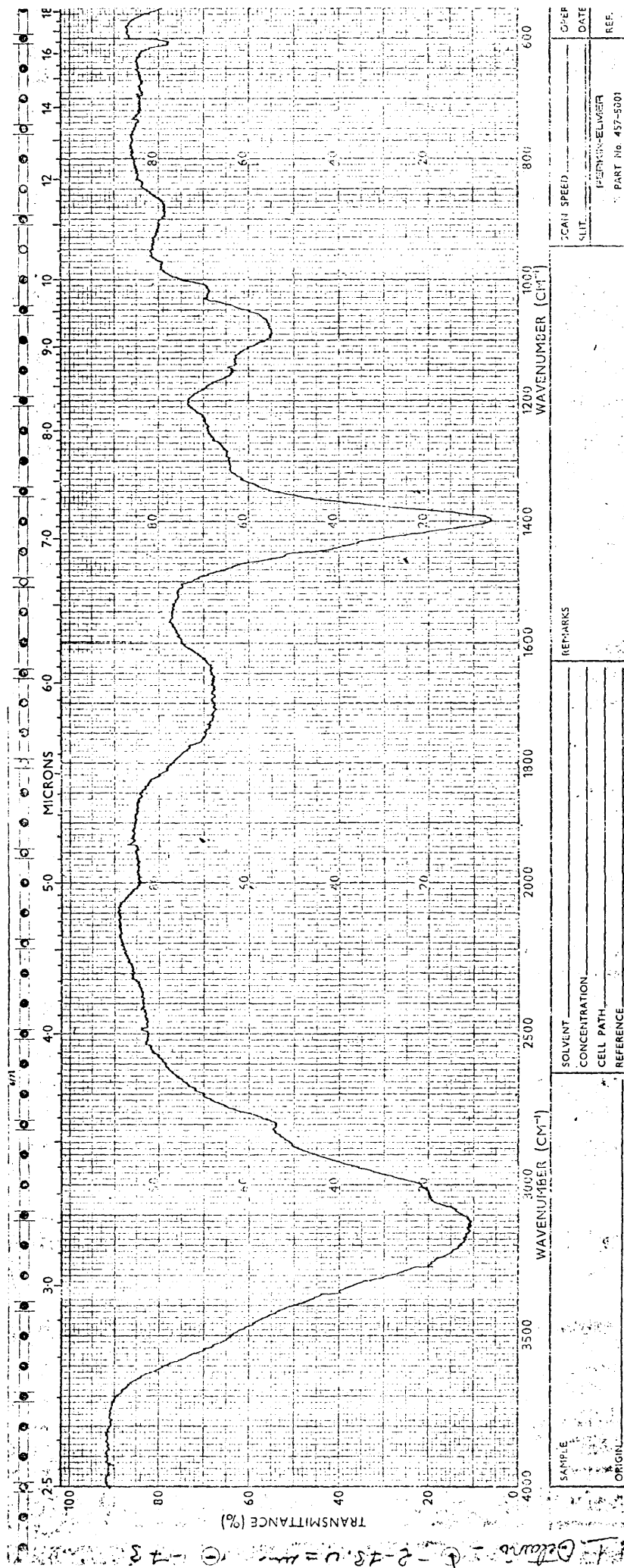


Fig. 74.- Cultivo de microorganismos de iodo en presencia de Sodio Dodecil Sulfato.  
Espectro IR de la 1a muestra.

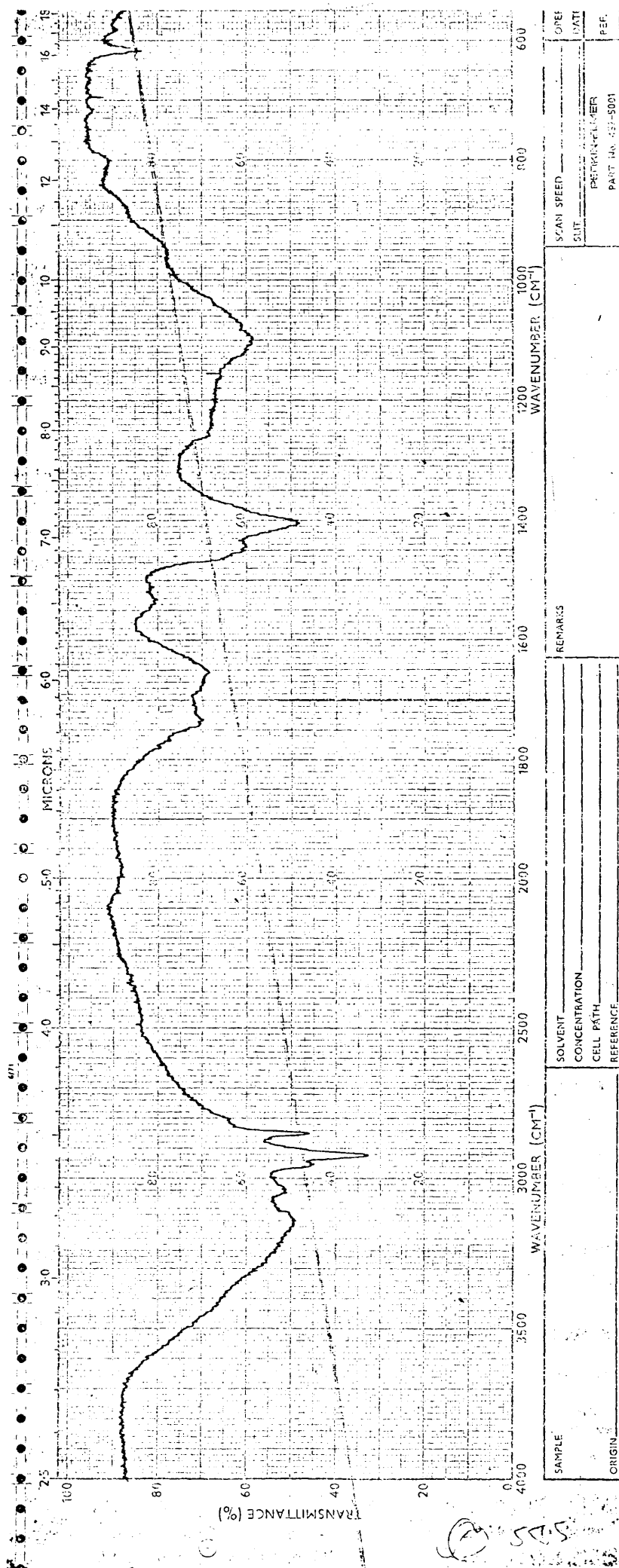


Fig. 75.- Cultivo de microorganismos de lodo en presencia de Sodio Dodecil Sulfato.  
Espectro IR de la muestra nº2.



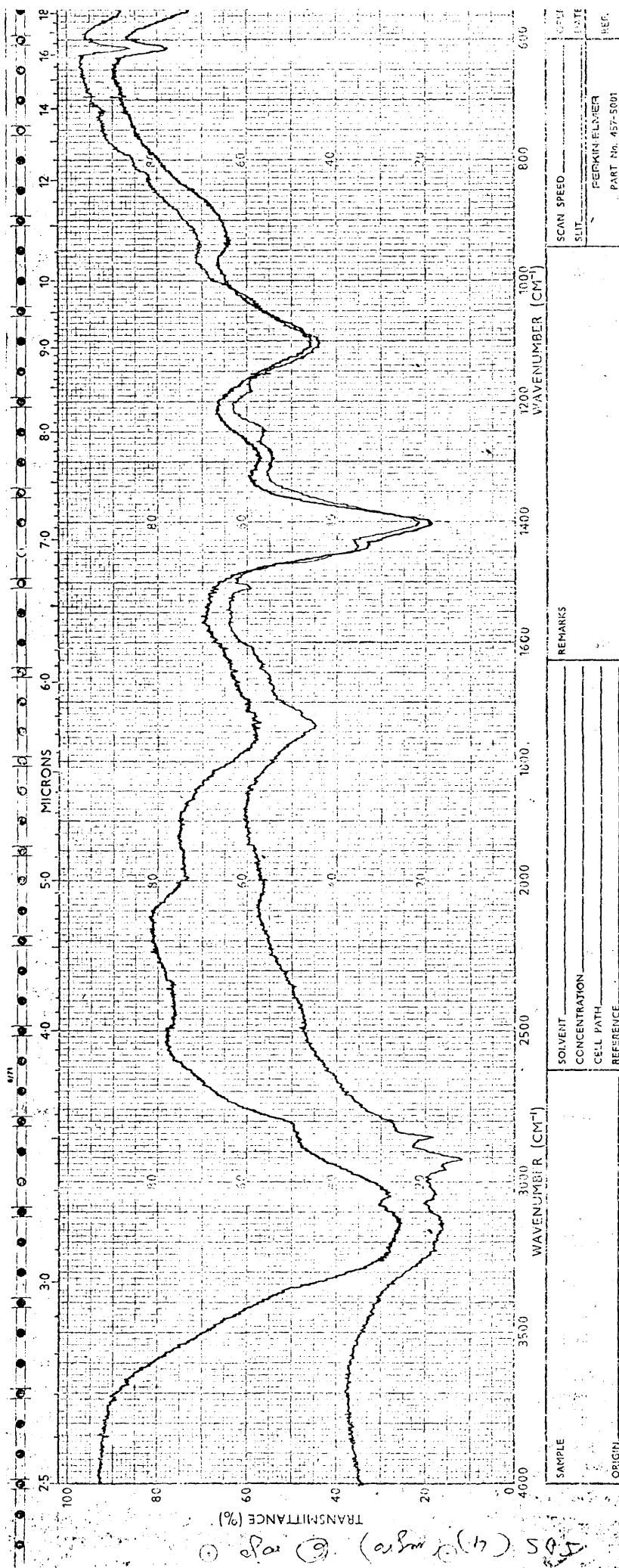


Fig. 77.- Cultivo de microorganismos de lodo en presencia de Sodio Dodecil Sulfato.  
Espectro IR de las muestras nº 4 y 6 .



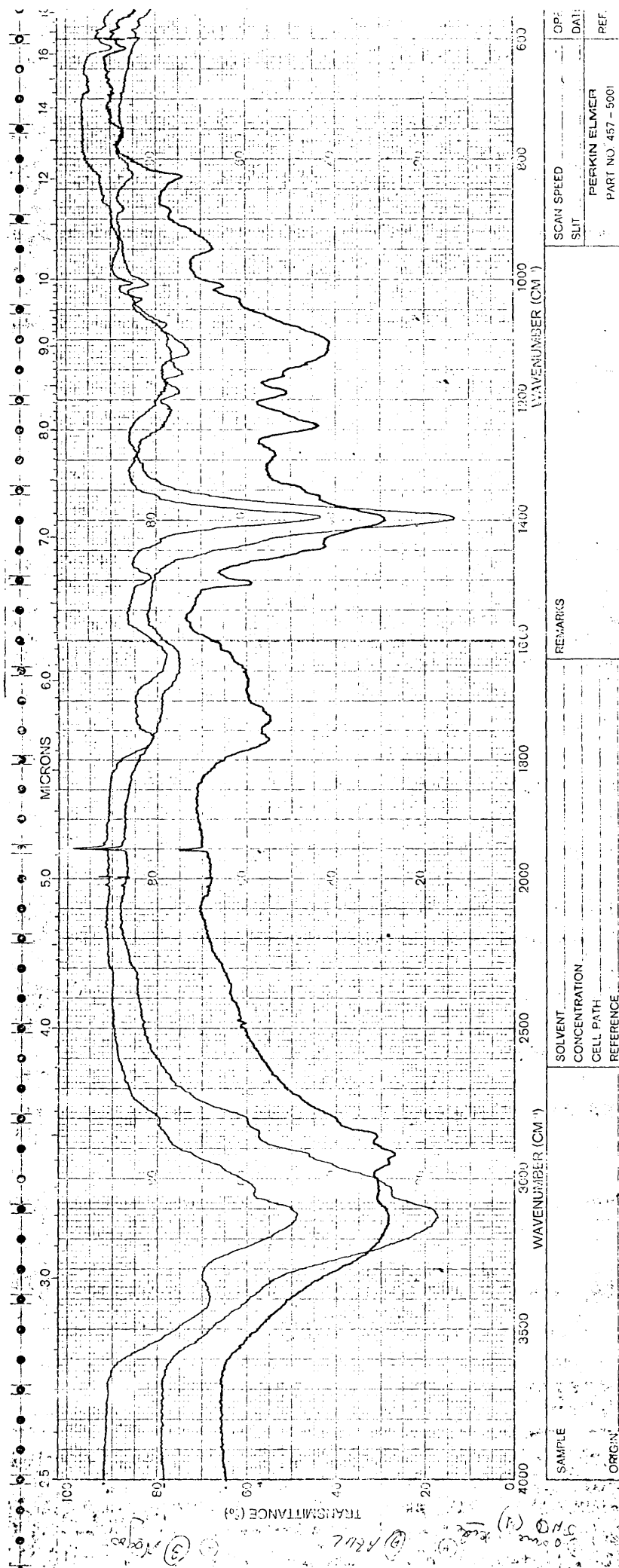


Fig. 79.- Cultivo de microorganismos de lodo en presencia de Dobane JNQ. Espectro IR de las muestras nº 1, 2 y 3.

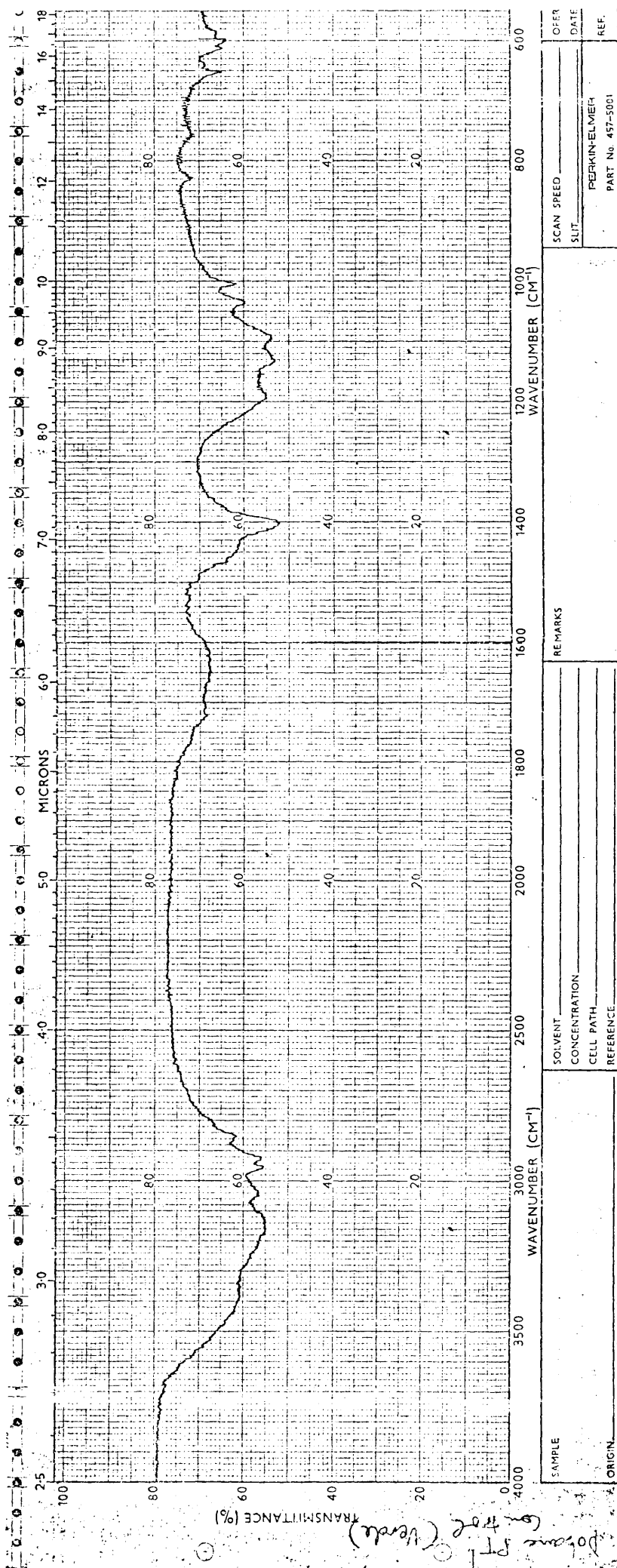


Fig. 80.- Espectro IR del Dobane PT. Control.



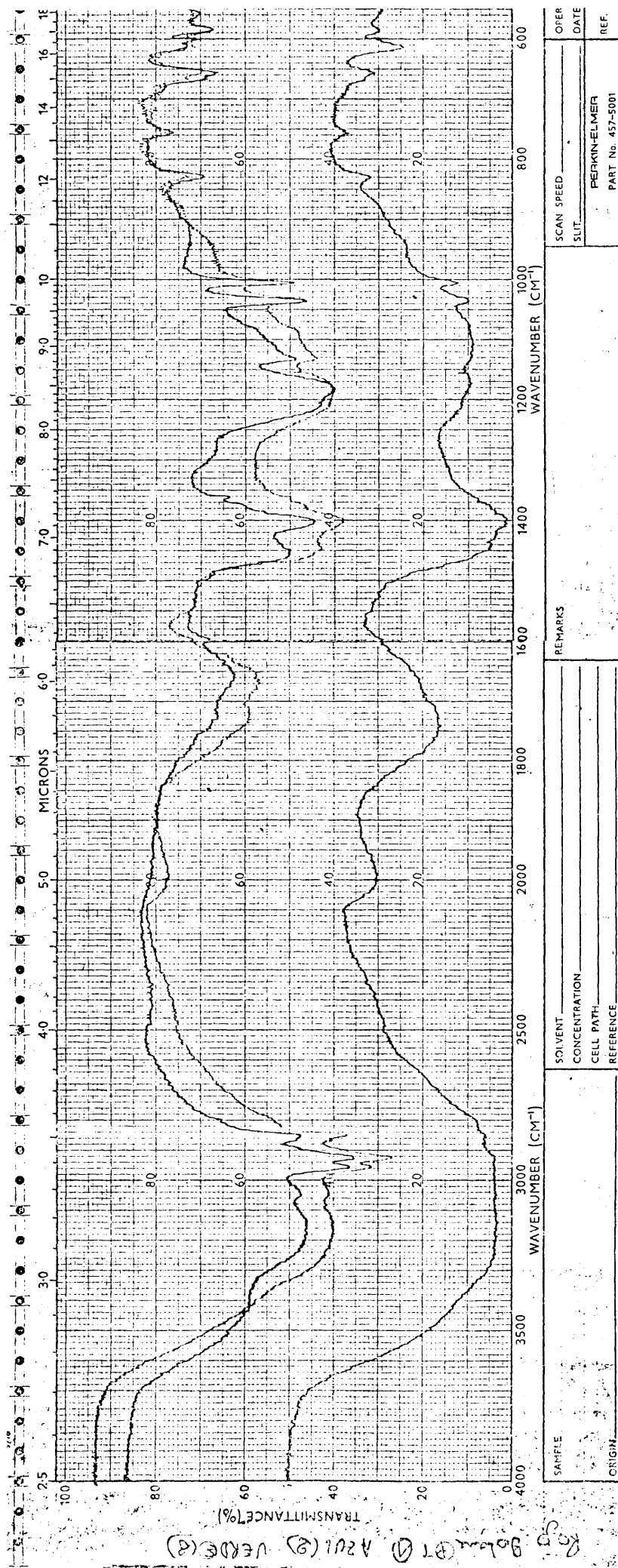
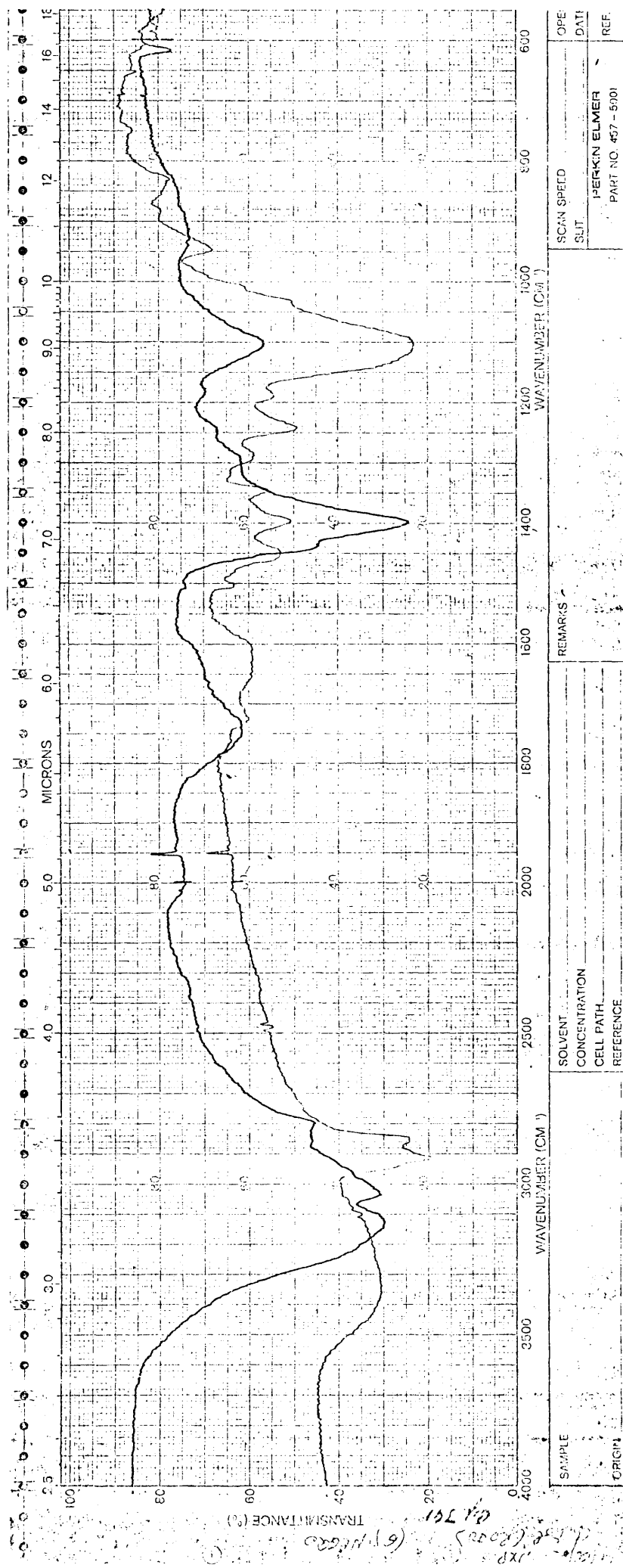


Fig. 81.- Cultivo de microorganismos de lodo en presencia de Dobane PI. Espectro IR de las muestras ng 1, 2 y 3.



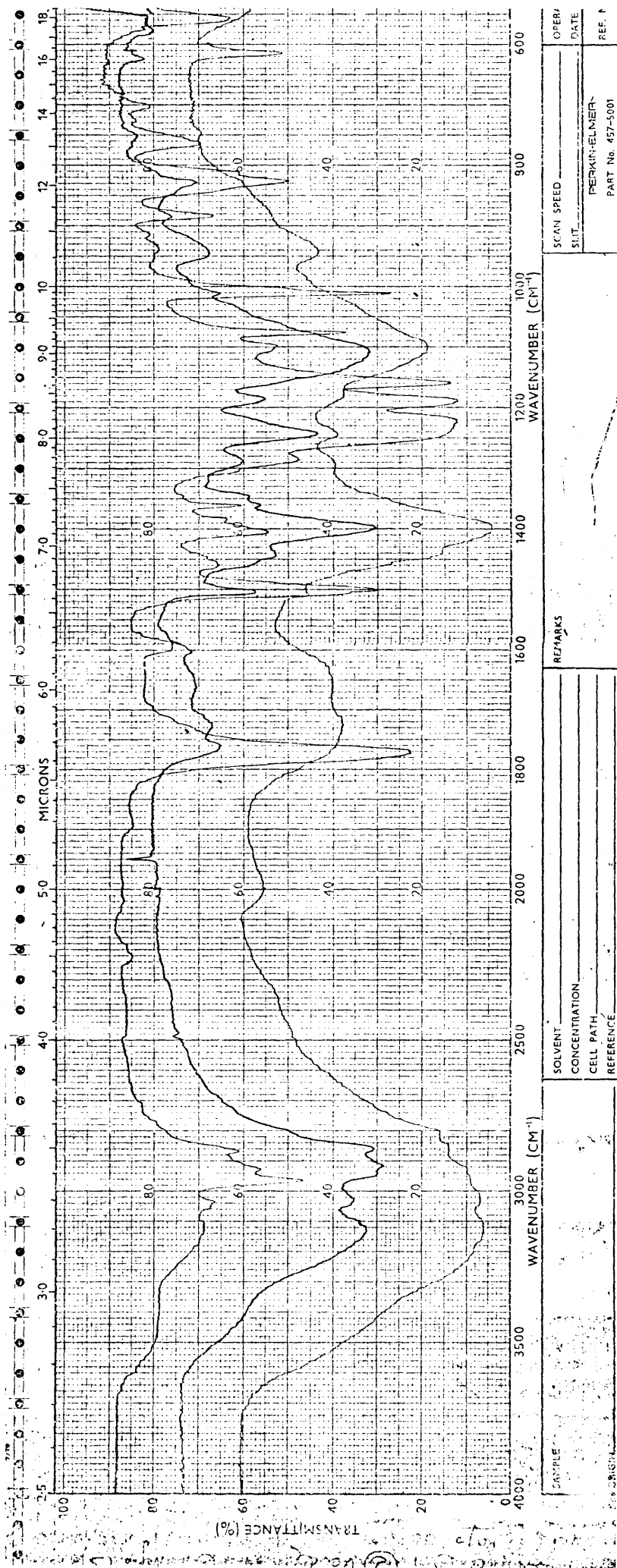


Fig. 83.- Cultivo de microorganismos de lodo en presencia de Lissapoli SNXP. Espectro IR de las muestras nº 1, 2 y 3.



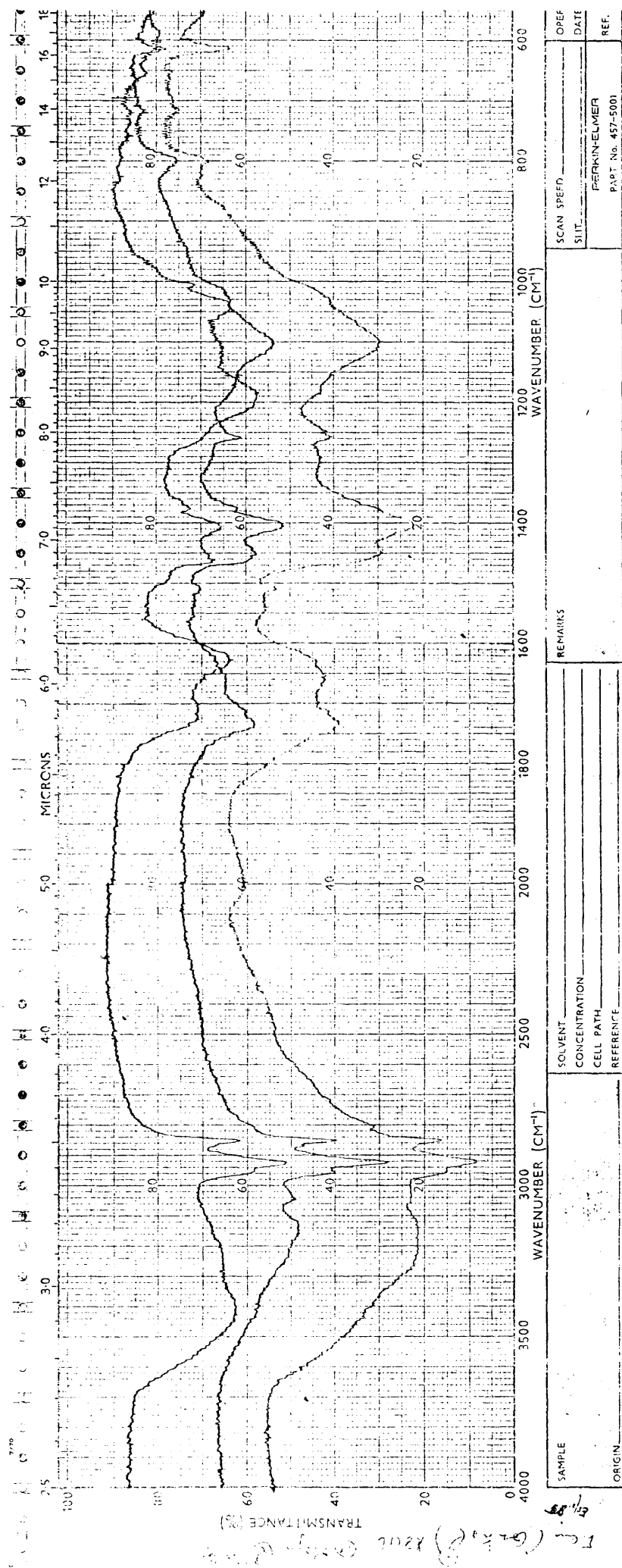


Fig. 85.- Espectro IR del Fenopon T 77, Control y muestras nº 1 y 2 del cultivo de microorganismos de lodo.



Interpretación de resultados.-

1.- En los espectros correspondientes al control y cultivo de microorganismos en presencia de Sodio Dodecil - Sulfato podemos observar :

A. Control : Las bandas que se pueden asignar con seguridad son :

- Banda a  $2.960\text{ cm}^{-1}$ .- Vibraciones de tensión asimétrica de enlaces C-H en grupos  $\text{CH}_3$ .
- Banda a  $2.870\text{ cm}^{-1}$ .- Vibraciones de tensión simétrica de enlaces C-H en grupos  $\text{CH}_3$ .
- Banda a  $2.925\text{ cm}^{-1}$ .- Vibraciones de tensión asimétrica de enlaces C-H en grupos  $\text{CH}_2$ .
- Banda a  $2.855\text{ cm}^{-1}$ .- Vibraciones de tensión simétrica de enlaces C-H en grupos  $\text{CH}_2$ .
- Banda a  $1.465\text{ cm}^{-1}$ .- Vibraciones de flexión del CH en grupos  $\text{CH}_2$ .
- Bandas a  $1.245$  y  $1.215\text{ cm}^{-1}$ .- Vibraciones de tensión de enlaces en grupos S=O.
- Bandas a  $1.075$ ,  $1.010$  y  $830\text{ cm}^{-1}$ .- Vibraciones de grupos sulfatos.
- Banda a  $710\text{ cm}^{-1}$ .- Vibraciones Rocking de deformación de cadenas lineales con cuatro o más grupos  $\text{CH}_2$ .

Este control no presenta ningún anillo aromático , siendo su espectro y composición química idénticos al espectro nº 23 de Dieter Hummel ( "Identification and Analysis of Surface-Active Agents by Infrared - and Chemical Methods ", 1962).

B.- Degradación en cultivo de microorganismos del lodo:

En los espectros de las muestras números 1 y 4 se aprecia un producto residual de naturaleza desconocida que no hemos identificado y no queda ningún resto de tensoactivo, lo que puede indicar la rapidez con que se degrada.

En todos los espectros se nota la falta del grupo sulfato que es rápidamente eliminado de la molécula (bandas muy fuertes, especialmente a  $1.215\text{ cm}^{-1}$  y  $1075\text{ cm}^{-1}$ ).

En cuanto al resto alifático que queda como residuo (bandas entre  $2.800$  y  $3.000\text{ cm}^{-1}$ ) será de cadena más corta que el original (no hay banda a  $710\text{ cm}^{-1}$  y la de  $1465\text{ cm}^{-1}$  solo se puede apreciar en el espectro de la muestra nº 2 donde son mayores).

En el espectro correspondiente a la muestra nº 3 la banda a  $1.740\text{ cm}^{-1}$  indica la presencia de vibraciones de tensión  $\text{C}=\text{O}$  en ésteres o cetonas.

En este mismo espectro las bandas a  $1.260$  y  $1010\text{ cm}^{-1}$  parecen indicar la presencia de OH en alcoholes primarios lo que vendría apoyado por la presencia de una banda ancha hacia  $3.400\text{ cm}^{-1}$ .

2.- Los espectros correspondientes al control y cultivo de microorganismos en presencia de Fenopon T 77 se pueden interpretar como sigue :

A. Control: Bandas que se pueden asignar con seguridad :

- Banda a  $3.400\text{ cm}^{-1}$ .- Corresponde a vibraciones de tensión de enlace N-H (en realidad estos enlaces no corresponden a este tipo de moléculas pero aparecen aquí tal vez como contaminación.)



- Banda a  $2.960\text{ cm}^{-1}$ .- Vibraciones de tensión - asimétrica de enlaces C-H en grupos  $\text{CH}_3$ .
  - Banda a  $2.925\text{ cm}^{-1}$ .- Vibraciones de tensión - asimétrica de enlaces C-H en grupos  $\text{CH}_2$ .
  - Banda a  $2.870\text{ cm}^{-1}$  .- Vibraciones de tensión - simétrica de enlace C-H en grupos  $\text{CH}_3$ .
  - Banda a  $2855\text{ cm}^{-1}$ .- Vibraciones de tensión si métrica de enlace C-H en grupos  $\text{CH}_2$ .
  - Banda a  $1.630\text{ cm}^{-1}$ .- Vibraciones de tensión de enlaces C=O en amidas terciarias que debe con - siderarse como banda típica en estos compuestos.
  - Banda a  $1.190\text{ cm}^{-1}$ .- Vibraciones de tensión de enlaces en grupos S=O .
  - Banda a  $1.040\text{ cm}^{-1}$ .- Vibraciones en grupos - sulfonatos.
- B.- En la degradación de este producto en el cultivo con microorganismos de lodo, se observa :  
Las cadenas alifáticas persisten en todos los espectros de la serie lo que indica que la degradación no se llega a realizar totalmente.-  
Desaparecen, en cambio, las bandas de sulfonatos en todos los espectros y tambien, progrsivamente ( espectros de las muestras números 1, 2 y 3) desaparece la banda C=O en amidas terciarias a  $1.630\text{ cm}^{-1}$ , siendo sustituidas por una banda - a  $1.735\text{ cm}^{-1}$  que junto con la banda a  $1.260\text{ cm}^{-1}$  debe indicar C=O en ácidos carboxílicos (la banda a  $1.260\text{ cm}^{-1}$  corresponde a vibraciones de - tensión de enlaces en grupos C=O y flexión OH.

3.- Estudio de los espectros correspondientes al control y cultivo de microorganismos en presencia de Dobanne JNQ.

A. Control : Asignación de bandas características :

- Banda a  $3.030\text{ cm}^{-1}$ . - Vibraciones de tensión de enlaces C-H en anillos aromáticos.
- Banda a  $2.960\text{ cm}^{-1}$ . - Vibraciones de tensión - asimétrica de enlaces C-H en grupos  $\text{CH}_3$ .
- Banda a  $2.925\text{ cm}^{-1}$ . - Vibraciones de tensión - asimétrica de enlaces C-H en grupos  $\text{CH}_3$ .
- Banda a  $2.870\text{ cm}^{-1}$ . - Vibraciones de tensión - simétrica de enlaces C-H en grupos  $\text{CH}_3$ .
- Banda a  $2.855\text{ cm}^{-1}$ . - Vibraciones de tensión - simétrica de enlaces C-H en grupos  $\text{CH}_2$ .
- Banda a  $1.600\text{ cm}^{-1}$ . - Vibraciones de tensión - C=C del anillo.
- Bandas a  $1.190$  y  $1.040\text{ cm}^{-1}$ . - Vibraciones de tensión de enlaces en grupos S=O.
- Banda a  $1.010\text{ cm}^{-1}$ . - Vibraciones Rocking  $\text{=CH}$  en el plano en anillos aromáticos.
- Banda a  $833\text{ cm}^{-1}$ . - Vibraciones de flexión  $\text{=CH}$  fuera del plano en anillos sustituidos en para.
- Banda a  $685\text{ cm}^{-1}$ . - Vibraciones de flexión en grupos S=O

Queremos hacer notar la mayor intensidad de las -  
bandas correspondientes a las vibraciones en grupos  $\text{CH}_3$  puesto que quedan dos grupos metilo terminales.

B.- Espectros de las muestras del cultivo de microorganismos :

En este caso la degradación es más lenta apreciándose mejor los productos intermedios, sobre todo en los espectros correspondientes a las muestras números 2 y 3, en donde se nota la persistencia del anillo aromático, que se observa en las bandas a  $1.500\text{ cm}^{-1}$ ,  $1010\text{ cm}^{-1}$  y  $830\text{ cm}^{-1}$ . Esta última banda indica que continúa la sustitución para .

En cuanto a la cadena alifática se ve que persiste claramente en el espectro de la muestra nº 3 , pero evidentemente es más corta que en el control según la relación de intensidades de bandas  $\text{CH}_3/\text{CH}_2$ . En este mismo espectro parece permanecer el grupo sulfonato.

En cuanto al compuesto oxidado, tiene un grupo  $\text{C=O}$  (carbonilo) según se aprecia en las bandas entre  $1.700$  y  $1800$  de los espectros correspondientes a las muestras números 2 y 3 que en parte puede ser carboxílico (espectro de la muestra nº 3 bandas a  $940\text{ cm}^{-1}$  de vibración de flexión del OH fuera del plano y a  $1.240\text{ cm}^{-1}$  combinación de tensión C-O y flexión O-H) y en parte de éste y tal vez fenólico por su elevada posición.

En el espectro de la muestra nº 2 la absorción hacia  $1.625\text{ cm}^{-1}$  parece debida a una insaturación que podría ser  $\text{Ar-C=C}$ .

4.- Estudio de los espectros correspondientes al control y cultivo de microorganismos en presencia de Dobane PT.

Aunque el espectro correspondiente al control está poco concentrado, debe ser muy parecido al Dobane JNQ. Se diferenciará específicamente en la intensidad de las bandas correspondientes a los grupos  $\text{CH}_3$  y la presencia del doblete de grupos isopropilo a  $1.385$  y  $1365 \text{ cm}^{-1}$ . Estos detalles persisten y probablemente se acentúan en los productos de degradación, sobre todo en el espectro correspondiente a la muestra nº 3 en que en la relación entre las bandas a  $2.960$  y  $2.925 \text{ cm}^{-1}$  se observa que son casi iguales de intensidad.

En los espectros de las muestras números 1 y 3 pueden verse las bandas debidas al grupo sulfonato ( $1.180 \text{ cm}^{-1}$ ;  $1.035$  y  $670 \text{ cm}^{-1}$ ) y al anillo aromático parasustituido ( $1.005$  y  $830 \text{ cm}^{-1}$ ).

Los productos de oxidación acumulados presentan una insaturación no conjugada, a juzgar por la banda a  $1.650 \text{ cm}^{-1}$  del espectro de la muestra nº 3 y grupos O-H alcohólicos ( $3.400 \text{ cm}^{-1}$  y hacia  $1.200 \text{ cm}^{-1}$ ).

5.- Estudio de los espectros correspondientes al control y cultivo de microorganismos en presencia de Lissapol - SNXP y Lissapol DS.

A. Control : Aparte de las bandas ya citadas para los otros productos ( $3.000 - 2.800 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1.500 \text{ cm}^{-1}$ ,  $1460 \text{ cm}^{-1}$  y  $830 \text{ cm}^{-1}$ ) las más significativas de estas fórmulas serían :

- Banda a  $3.380 \text{ cm}^{-1}$ .- Vibraciones de tensión O-H en alcoholes que denota la presencia de un grupo alcohólico terminal.
- Bandas a  $1.035 \text{ cm}^{-1}$  ( un poco enmascarada por la banda intensa a  $1.100 \text{ cm}^{-1}$  ) y a  $1.285 \text{ cm}^{-1}$  de vibraciones de tensión del C-O y de flexión del O-H

en alcoholes primarios. Estas dos bandas apoyan a la citada anteriormente a  $3.380\text{ cm}^{-1}$ .

- Banda a  $1.350\text{ cm}^{-1}$  de vibraciones waggin de - grupos  $\text{CH}_2$ .

- Banda a  $1.110\text{ cm}^{-1}$  de tensión C-O en éteres - acíclicos. Esta banda podemos considerarla como la más representativa de este grupo de compuestos.

B.- Estudio de la degradación en cultivo de microorganismos :

Al contrario que en los productos anteriores, la degradación es menos acuada.

Es digna de notar la acumulación de un producto de degradación que debe ser un ester o una lactona, a juzgar por la posición de la banda C=O de tensión a  $1.770\text{ cm}^{-1}$ . Este producto se forma en los espectros de las muestras números 2 y 3 correspondientes al Lissapol SNXP y también en el de la muestra nº 2 de Lissapol DS. Teniendo en cuenta - que ambos productos tienen en común los grupos - oxietilénicos, debemos pensar que la sustancia - acumulada procede de esa parte de la molécula.

En otros espectros ( muestra nº 1) aparecen en la degradación otros carbonilos (banda a  $1725\text{ cm}^{-1}$ ) que parecen carboxílicos, asociados a bandas típicas ( $940\text{ cm}^{-1}$  y  $1.290\text{ cm}^{-1}$ ).

## IX.- CONCLUSIONES

- 1.- Cuando cada uno de los seis tensoactivos utilizados en el presente trabajo ha sido añadido en distintas dosis a cultivos de la microflora total de muestras de lodo hemos obtenido una reducción sensible en el crecimiento de los microorganismos aún en la concentración más baja. (10 ppm.)
- 2.- Las bacterias aisladas han tenido un comportamiento diferente como respuesta a la presencia de tensoactivo en el medio de cultivo :
  - En algunos casos el crecimiento bacteriano resulta disminuído progresivamente al aumentar la concentración de producto en el medio.
  - En otros los tensoactivos muestran una acción bacteriostática y, por encima de ciertas dosis, bactericida.
  - Alguna vez, por último, parece que el crecimiento resulta favorecido con determinadas concentraciones de tensoactivo.
- 3.- En todos los casos, y aún en la dosis más baja se produce una pérdida de la movilidad que caracteriza a algunas bacterias, pero esta propiedad es recuperada cuando los microorganismos afectados vuelven a cultivarse en medios nutritivos sin tensoactivos.
- 4.- Se ha observado la ausencia de formación de endosporas en los cultivos de las estirpes del género *Bacillus* estudiadas cuando la concentración de tensoactivo es del orden de 500 ppm. o superior.
- 5.- Las bacterias típicamente grampositivas pierden esta coloración en dosis superiores a 500 ó 1000 ppm. apareciendo como gramnegativas. Además tanto en las Gram-

positivas como en las gramnegativas, el colorante se fija en menor cantidad y aparecen en las preparaciones muy debilmente teñidas.

- 6.- En los procesos del ciclo del Nitrógeno estudiados los tensoactivos afectan en distinto grado según - la concentración y naturaleza del producto y el grupo de microorganismos sometido a prueba :
- Sodio Dodecil Sulfato reduce considerablemente el número de gérmenes viables responsables de cada uno de estos procesos a concentración de 100 ppm, e inhibe la nitrificación y la fijación libre aerobia del Nitrógeno atmosférico por encima de esta concentra -- ción.
  - Fenopon T 77 no afecta al número de viables desnitrificantes hasta la concentración de 1000 ppm. pero en 100 ppm. inhibe parcialmente la nitrificación y - rebaja el número de amonificantes y fijadores libres aerobios.
  - - Dobane PT en 100 ppm. disminuye el número de amonificantes, desnitrificantes y fijadores libres aerobios e inhibe por completo la nitrificación. En concentra - ción de 1000 ppm. inhibe también la desnitrificación.
  - Dobane JNQ actúa disminuyendo de forma muy notable el número de viables en todos los casos desde la do - sis de 100 ppm, e impide el desarrollo de los gérme - nes oxidantes del amonio y de los fijadores libres - aerobios cuando se añade en 1000 ppm.
  - Lissapol SNXP es en conjunto el de menor efecto in - hibidpr de los tensoactivos utilizados. No afecta al de amonificantes hasta la dosis de 1000 ppm. y, aun - que en los demás procesos ya en 100 ppm. disminuye el número de gérmenes, las dosis más altas son casi siem - pre mejor toleradas que las de los otros productos.



- Lissapol DS disminuye tambien el número de viables en todos los procesos en concentración de 100 ppm. - Inhibe el desarrollo de los oxidantes de los nitritos a 1000 ppm y a 10.000 ppm. el de los oxidantes del amoniac y de los amonificantes.
- 7.- En el proceso de la Amilolisis el número de viables resulta mucho más bajo que en el control en concentración de 100 ppm. de todos los tensoactivos y son bacteriostáticas las dosis de 10.000 ppm. de Fenopon T 77 y 1000 ppm. de Dobane PT y Dobane JNQ. La celulolisis aerobia queda inhibida en dosis superiores a 100 ppm. de Sodio Dodecil Sulfato y Fenopon T 77 y en todas las concentraciones de Dobane PT, Dobane JNQ y Lissapol SNXP. Lissapol DS es el producto mejor tolerado por los microorganismos celulolíticos aerobios que se desarrollaron en todas las dosis -- aunque en número muy inferior al del control.
- 8.- En el estudio por espectroscopía de infrarrojos de la degradación de los productos tensoactivos utilizados; por los microorganismos del lodo hemos observado :
- Tanto los grupos sulfato como sulfonato son separados rápidamente del resto de la molécula del producto dejando de aparecer en los espectros sus bandas características.
  - Son mucho más rápidamente metabolizados el Sodio Dodecil Sulfato que los Dobane JNQ y PT, mientras que Fenopon T 77 conserva la mayor parte de su cadena alifática y en los Lissapol SNXP y DS la degradación es más lenta.

X. BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Abbot, B.J. & Casida, L.E., Jr (1968). Oxidation of alkanes to internal monoalkenes by a *Nocardia*. *J. Bacteriol.*, 96.-925.-930.
- 2.- Alexander, M. (1967). "Introduction to Soil Microbiology".- Jhon Wiley and Sons. Inc. New York.
- 3.- Anderson, D.A. (1964). Growth response of certain bacteria to ABS and other surfactants. *Purdue University, Engineering Bulletin, Extension Series*, 19, 592-601.
- 4.- Anderson, C.E. (1967). Fatty acid metabolism (oxidation and -biosynthesis). "The Encyclopedia of Biochemistry" (R.J. Williams & E.M. Lansford, Jr. eds.) Reinhold, New York.
- 5.- Baars, J.K. (1965). Bacterial activity in pollution abatement. *Institute of Sewage Purification, Journal and Proceedings*, -36-44.
- 6.- Baldy, J. (1966). Solutions de l'industrie pour résoudre le - problème de la pollution des eaux par les détergents. Paris - Eyrolles Gauthier-Villars, 139-151.
- 7.- Bishop, D.G., Rutberg, L. Samuelson, B. (1967). The solubilization of the cytoplasmic membrane of *Bacillus subtilis* by - SDS. *European J. Biochem.*, 2, 454-459.
- 8.- Bogan, R.H. & Sawyer, C.N. (1954). Biochemical degradation of synthetic detergents. I. Preliminary studies. *Sewage Ind. - Wasters*, 26, 1069-1080.
- 9.- Borstlap, C. & Kortland, C. (1967). Biodegradability of nonionic surfactants under aerobic conditions. *Fette-Seifen-Anstrichmittel*. 69.736-738.

- 10.- Bunch, R.L. & Chambers, C.W. (1967). A biodegradability test for organic compounds. Journal of the water Pollution Control Federation, 39, 181-187.
- 11.- Brevion, G. Cabridenc, R. & Jullig, T. (1966) Evaluation of the biodegradability of detergents by a static method. Tribune CEBEDEAU, 18(266), 13-18.
- 12.- Brown, T.J. (1965). A study of protozoa in a diffused-air activated sludge plant. Institute of Sewage Purification, - Journal of Proceedings, 375-378.
- 13.- Bruce, A.M., Swanwick, J.D. & Ownsworth, R.A. (1966). Synthetic detergents and sludge digestion : Some recent observations. Inst. sewage Purific, J. Proc., 5, 427-43.
- 14.- Burges, A. "Introducción a la Microbiología del suelo". Ed. Acribia.
- 15.- Calaway, W.T. (1968). The metazoa of waste treatment processes-rotifers. Journal of the water Pollution Control Federation, 40, R412-R422.
- 16.- Campbell, N.E. & Lees, M. (1967). "In soil Biochemistry" (Mc. Loren & Peterson ed.) Marcel Dekker, New York.
- 17.- Ciattoni, P. & Sardigno, S. (1968). New contributions to knowledge of the biodegradability of LAS. Riv. Ital. Sostanze -- Grasse, 45(1), 15-26.
- 18.- Cowgill, R.W. (1968). Fluorescence and protein structure, XVI. Detergents bound to muscle proteins. Biochim. Biophys. Acta - 168, 439-446.
- 19.- Curds, C.R. Cockburn, A. & Vandyke, J.M. (1968). An experimental study of the role of the ciliated protozoa in the activated sludge process. Water Pollution Control. 67, 312-329.

- 20.- Czok, R. Kaiser, G. & Täuber, G. (1968). Interaction of anionic surfactants with enzymes. 5 International Congress on -- Surface Activity. Barcelona. Ediciones Unidas, 1969, 3,337 - 346.
- 21.- Cheeseman, G.C. (1968). A preliminary study by gel filtration and ultracentrifugation of the interaction of bovine milk casein with detergents. J. Dairy Res. 35, 439-445.
- 22.- Dagley, S. (1965). Degratation of the benzene nucleus by bacteria. Sci. Progr. (london), 53.381-392.
- 23.- Davis, E.M. & Gloyna, E.F. (1967). Biodegradability of nonionic and anionic surfactants by blue-green and green algae. Report to the Center for Research in Water Resources, CRWR 20 A, University of Texas, Austin.
- 24.- Decker, R.V. & Foster, J.F. (1966). The interaction of bovine plasma albumin with detergent anions. Stoichiometry and mechanism of binding of alkylbenzenesulfonates. Biochemistry (ACS), 5,1242-1254.
- 25.- Días, F.F. & Bhat. J.V. (1964). Microbial ecology of activated sludge. I. Dominant bacteria. Appl. Microbial., 12, 412 - 417.
- 26.- Días, F.F & Bhat, J.V. (1965). Microbial ecology of activated sludge.II. Bacteriophages, Bdellovibrio, coliforms and other - organisms. Appl. Microbiol, 13, 257-261.
- 27.- Díaz Miguel, E. (1972). Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid.
- 28.- Dieter Hummel (1962). "Identification and Analysis of Surface-active Agents by Infrared and Chemical Methods". Text volume - spectra volume. Interscience Publishers, John Wiley & Sons - New York - London - Sydney.

- 29.- Dommergues, Y. et Mangenot, F. (1970), *Ecologie Microbienne du sol*. Masson et C<sup>i</sup>e. ed. Paris.
- 30.- Dowben, R.M. & Koehler, W.R. (1961). The interaction of a - nonionic detergent with protein.I. Physical properties of - the protein-detergent complex. *Arch.Biochem.Biophys.* 93. - 496-500.
- 31.- Dychdala, G.R. (1968). Acid-anionic surfactant sanitizers. "Desinfection, Sterilization and Preservation" (C.A. Lawrence and s.s. Block eds.) Lea & Febiger, Philadelphia, pp. 253 256.
- 32.- Evans, W.C. (1963). The microbiological degradation of aro - matic compounds. *J. Gen. Microbiol*, 32, 177-184.
- 33.- Fischer, W.K. (1958). Action of high concentrations of anio - nic surfactants on bacteria. *Arch. Microbiol.*, 31, 33-49.
- 34.- Foster. J.W. (1962). Bacterial oxidation of hydrocarbons."Oxy- genases" (O. Hayaishi, ed.) Academic Press, New York, Chap. 6 pp. 241-271.
- 35.- Fuhs, G.W.(1961) Microbial degradation of hydrocarbons. *Arch. Microbiol.* 39, 374-422.
- 36.- German, A. et Panose-Perrin, J. (1965) Etude expérimentale - des détergents bactéricides. *Sem. Hôp., Sem. Therap., Fr.*, 41 n° 9 510-513.
- 37.- Gibson, D.T. (1968) Microbial degradation of aromatic com - pounds. *Science*, 161, 1093-1097.
- 38.- Girard, H. et Rougieux, R.(1967) " Techniques de Microbiolo - gie Agricole". Dunod, Paris.
- 39.- Glassman, H.N. (1948). Surface active agents and their appli - cation in bacteriology. *Bacteriol. Rev.*, 12, 105-148.

- 40.- Glassman, H.N. & Molnam, D.M. (1951), Precipitation and -  
inhibition of lysozyme by surface-active agents. Arch. -  
Biochem. Biophys, 32, 170-180.
- 41.- Gorin, G. Mamiya, G & Chin, C.C (1967). Urease. VIII. Its  
interaction with sodium dodecyl sulfate. Experientia, 23,  
443-445.
- 42.- Hammerton, C. (1956). Synthetic detergents and water supplies  
Proc. Soc. Water Treat. Exam. 5, 145-174.
- 43.- Harkness, N. (1966). Bacteria in sewage treatment proce -  
sses. Institute of Sewagw Purification, Journal and Proceeu  
dings, 542-557.
- 44.- Hartmann, L. (1963). Activated sludge floc composition. Wa-  
ter Sewagw works, 110, 262-266.
- 45.- Hartmann, L. (1966). Toxicity of newer surfactant to auto -  
trophic organisms. Gas - Wasserfach, 107, 251-255.
- 46.- Hawkes, H.A. (1963). "The Ecology of Waste Water Treatment"  
Macmillan, New York.
- 47.- Heyman, J.J. & Molof, A.H. (1968). Biodegration of linear  
Alkilated Sulfonates. Environment. Sci., Technol., USA. 2, -  
nº 10, 773-778.
- 48.- Horvath, R.S. & Koft, B.W. (1972) Degradation of Alkyl Ben-  
zene Sulfonate by Pseudomonas species. Appl. Microbiol. 23  
407-414.
- 49.- Hsu, Y.-C. (1965). Detergent - splitting enzyme from Pseudo-  
monas, Nature, 207, 385-388.
- 50.- Huddleston, R.L. & Allred, R.C. (1964). Effect of structure  
on biodegradation of nonionic surfactants. 4 International  
Congress on Surface Activity, Brussels. Gordon and Breach,  
London, 3, 871-882 (1967).

- 51.- Hutchinson, E. & Shinoda, K. (1967). An outline of the - solvent properties of surfactant solutions. "Solvent Properties of Surfactant Solutions ". (K. Shinoda, ed.) De -kker. New York, 1-26.
- 52.- Huyser, H.W. (1960). Relation between the structure of de-tergents and their biodegradation. 3 International Congress on Surface Activity, Cologne. Universitätsdruckerei, Mainz 1961, 3, 295-301.
- 53.- Iliescu, A. & Mavrianopol, A. (1966). Relation between - anionic surfactant biodegradability and microorganism de -velopment in the activated sludge treatment. Studii de Pro-tection si Epurarea Apelor, 7, 363-385.
- 54.- Imanishi, A., Momotani, Y & Isemura, T. (1965). The interac-tion of detergents with proteins. The effect of detergents - on the conformation of B. subtilis - amylase and Bence-Jones - protein. J. Biochem. (Tokyo), 57, 417-429.
- 55.- James, A.M. (1965). Surface active agents in microbiology. Surface Activity and the living Cell. Soc. Chem. Ind. (Lon -don) Monograph No 19, 3-23.
- 56.- Jenkins, S.H. Harkness, N, Lennon, A, & James, K. (1967) - The biological oxidation of synthetic detergents in recir -culating filters. Wat. Res., G.B., 1. 31-53.
- 57.- Jones, D.F. & Howe, R. (1968). Microbiological oxidation of long chain aliphatic compounds. I. Alkanes and alk-1-enes. II. Branched chain alkanes. III. 1-Halogenoalkanes, 1 -cyanohexa decane and 1 - alkoxyalkanes. Iv. Alkane derivatives having polar terminal groups. V. Mechanism of hydroxylation. J. Chem Soc. C. 2801 - 2833..



- 58.- Klein, S.A. & Mc. Gauhey, P.H. (1964). Fate of detergents in septic tank systems and oxidation ponds. Sanitary Engineering Research Laboratory Report 64-1, and supplement, - University of California, Berkeley.
- 59.- Klein, D.A. & Henning, F.A. (1969). Role of alcoholic intermediates in formation of isomeric ketones from n-hexadecane by a soil *Arthrobacter*. *Appl. Microbiol.* 17, 676-681.
- 60.- Klug, M.J. & Markovetz, A.J. (1967). Degradation of hydrocarbons by members of the genus *Candida*. II. Oxidation of n-alkanes and 1-alkenes by *Candida lipolytica*. *J. Bacteriol.* 93, 1847-1852.
- 61.- Knox, W.E. (1961). Degradation of aromatic compounds - "Biochemists' Handbook" (C. Long. ed.) Van Nostrand, New York pp. 596-601.
- 62.- Kopp, R. & Müller, J. (1965). Effects of related anionic detergents on flagellation, motility, swarming and growth of *Proteus*. *Appl. Microbiol.* 13, 950-955.
- 63.- Lambin, S., Carrère, C. et Beignot Devalmont, Mme. M. (1966) Dégénération biologique des détergents synthétiques par la flore microbienne des eaux résiduaires. *Ann. Pharm.* fr. 24, n 161-166.
- 64.- Lambin, S. et German, A. (1969) "Précis de Microbiologie" (Masson et C<sup>ie</sup> eds.) Paris.
- 65.- Lominski, I. & Lendrum, A.C. (1942). The effect of surfactants on *B. proteus*. *J. Pathol. Bacteriol.* 54, 421-433.
- 66.- Mann, A.H. (1969). The behavior of high molecular weight LAS in laboratory-scale biodegradation tests. 5 International Congress on Surface Activity, Barcelona, Ediciones Unidas, - Barcelona, 1, 103-114.

- 67.- Mathews, M.B. (1954). Testicular Hyaluronidase in relation to micelle formation by inactivating agents. J. Am. Chem. Soc. 76, 2948-2952.
- 68.- Mendoza, C. (1971) Interacciones entre algunos Pesticidas, fundamentalmente los insecticidas DDT, Sevin, Roger, Menazón y Malathion, y los microorganismos del Ciclo Biológico del Nitrógeno.- Tesis Doctoral. Dep. Microb.Fac. Ciencias. Uni Compl. Madrid.
- 69.- Meynell, G.G. & Meynell, E. (1969) "Bacteriología experimental : Teoría y práctica ". Ed. Omega, Barcelona.
- 70.- Mc. Kenna, E.J. & Kallio, R.E. ( 1965). The biology of hydrocarbons. Ann. Rev. Microbiol., 19,183-208.
- 71.- Mc. Kenna, E.J. (1966). Effect of hydrocarbon structure on mechanisms of microbial alkane metabolism. Ph. D. Thesis, University of Iowa, Iowa City.
- 72.- Mc. Kinney, R.E. & Wetchlein, R.G. (1953). Isolation of flocc-producing bacteria from activated sludge. Appl. Microbiology. 1, 259-261.
- 73.- Mc. Kinney, R.E. (1956). Biological flocculation. "Biological Treatment of Sewage and Industrial Wastes" ( Brother Joseph Mc. Cabe & W.W. Eckenfelder, Jr. eds.) Vol. 1, Reinhold, New York, pp.88-100.
- 74.- Mc. Kinney, R.E., Tomlinson, H.D. & Wilcox, R.L. (1956). Metabolism of aromatic compounds by activated sludge. Sewage Ind. Waster, 28, 547-557.
- 75.- Mc. Kinney, R.E. & Symons, J.M. (1959) Bacterial degradation of ABS. I. Fundamental biochemistry. Sewage Ind. Wastes., 31,549-556.
- 76.- Morcillo, J., Madroñero, R. (1962). "Aplicaciones prácticas de la espectroscopía infrarroja". Fac.Ci. Univ.Madrid.
- 77.- Ōba, K & Tomiyama, S. (1965) Biochemical studies of alkyl ben-

- zene sulfonates. II. Action of ABS on microorganisms. Yuka - gaku, 14, 364-369.
- 78.- Oldham, L.W. (1958), Investigations in to the effects of a - nonionic synthetic detergent on biological percolating fil - ters. Institute of Sewage Purification, Journal and Procee - dings, 136-147.
- 79.- Overath, P., Pauli, G. & Schairer, H.V. (1969), Fatty acid de - gradation in Escherichia coli. European J. Biochem. 7, 559 - 574.
- 80.- Patterson, S.J. Scott, C.C. & Tucker, K.B.E. (1967). Nonionic detergent degradation. I. Thin layer chromatography and foa - ming properties of alcohol polyethoxylates. Journal of the - American Oil Chemists ' Society, 44, 407-412.
- 81.- Pitt-Rivers, R. & Impiombato F.S.A. (1968). The binding of SDS to various proteins - Biochem. J., 109. 825-830.
- 82.- Pochon, J. (1954). "Manuel Technique d'analyse microbiologique du sol". Masson et Cie Paris.
- 83.- Pouchert, Charles I (1970). The Aldrich Library of Infrared - spectra. Aldrich Chemical Company. USA.
- 84.- Putnam, F.W. (1948). The interactions of proteins and synthe - tic detergents. Advan. Protein Chem. 4, 79-122.
- 85.- Ray. A. Reynolds, J.A. Polet, H. & Steinhardt, J. (1966) Bin - ding of large organic anions and neutral molecules by native bovine serum albumin. Biochemistry (ACS), 5, 2606-2616.
- 86.- Reynolds, J.A., Herbert, S. Polet, H. Steinhardt, J. (1967) - The binding of divers detergent anions to bovine serum albu - min. Biochemistry. (ACS), 6, 937-947.
- 87.- Robeck, G.G., Cohen. J.M. Sayers, W.T. & Woodward, R.L. (1963) Degradation of ABS and other organics in saturated soils. Jou - nal of the Water Pollution Control Federation, 35, 1225-1263.

- 88.- Rose, A.H. (1969). "Microbiología química". Ed. Alhambra, Madrid.
- 89.- Salton, M.R.J. (1950). The bactericidal properties of certain cationic detergents". Aust. J. Scient. Research B,3,45.
- 90.- Schnaitman, C.A. (1971) Solubilization of the Cytoplasmic - Membrane of Escherichia coli by Triton x-100. J. Bacteriol. 108, 545-552.
- 91.- Schönborn, W. (1962) Methods for testing biodegradability - of detergents. Seifen - Öle-Fette-Wachse, 88, 870-875.
- 92.- Stzkorn, E.A. Huddleston, R.L.& Allred, R.C. (1964). An evaluation of the river-die-away technique for studying detergent biodegradability. J. Amer. Oil Chemists'Soc. 41,nº12, - 826-830.
- 93.- Shaposhnikov, V.N. Kozlova, E.I. & Arkad'eva, Z.A. (1968) - Microflora of petroleum - containing sewage. Microbiology - (USSR) 37,418-423.
- 94.- Shafa, F. & Salton, M.R.J. (1960). Disaggregation of bacterial cell walls by anionic detergents. J, Gen. Microbiol, - 23, 137.
- 95.- Skinner, F.A= (1959), Decomposition of anionic surfactants by soil bacteria. Nature, 183, 548-549.
- 96.- Smithson, L.H. (1966) Properties of ethoxylate derivatives of nonrandom alkylphenols. Journal of the American Oil Chemist'Society, 43, 568-571.
- 97.- Standard Methods for the examination of water and wastewater American Public Health Association., INC 1790 Broadway, New - York. 1966.
- 98.- Stanier, R, Y., Doudoroff, M. & Adelberg, E.A.(1965) "El Mundo de los Microbios". Ed. Aguilar. Madrid.
- 99.- Stokke, O. (1969). The degradation of a branched chain fatty

acid by alterations between  $\alpha$ - and  $\beta$ -oxidations. Biochim. Biophys. Acta. 176, 54-59.

- 100.- Stumpf, P.K., Barber, G.A. (1960), Comparative mechanisms - for fatty acid oxidation. "Comparative Biochemistry" (M. Florin and H.S. Mason eds.) Vol. 1, Academic, New York pp 75-105.
- 101.- Swanwick, J.D., Bruce, A.M. & Vandyke, K.G. (1967), Inhibition of sludge digestion by synthetic detergents. Annual conference. Torquay, Symposium paper n° 4.
- 102.- Swanwick, J.D. & Shurben, D.G. (1969). Effective Chemical - treatment for inhibition of anaerobic sewage sludge digestion due to anionic detergents. Inst. of Sewage Purific. I. of the Inst. of Water Pollution Control, G.B. nO.2.
- 103.- Swisher, R.D. (1963) Biodegradations rates of isomeric deheptyl benzene sulfonates. Develop. Ind. Microbiology, 4, 39-45.
- 104.- Swisher, R.D. (1963) Biodegradation of ABS in relation to chemical structure. Journal of the Water Pollution Control Federation, 35, 877-892.
- 105.- Swisher, R.D. (1970) "Surfactant Biodegradation" (Marcel Dekker, Inc. ed.) New York.
- 106.- Vaicum. L. Iliescu, A. (1967) Dégradation biologique des détergents et méthode de détermination de leur biodegradabilité". Rev. Chem. Român, 18, No 1, 6-12.
- 107.- Van der Liden, A.C. & Thijsse, G.J.E. (1965). The mechanisms of microbial oxidations of petroleum hydrocarbons. Advan. Enzymol. 27, 469-546.
- 108.- Van Gils, H.W. (1964). Bacteriology of activated sludge. Report No, 32, Research Institute for Public Health Engineering (IG-TNO). The Hague.
- 109.- Weeks, G., Shapiro, M., Burns, R.O. & Wakil, S.J. (1969). Control of fatty acid metabolism. I. Induction of enzymes of fa-

tty acid oxidation in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol*, 97 - 827-836.

- 110.- Williams, O.B. & Rees, H.B. (1949) Bacterial utilization of anionic surfactants. *J. Bacteriol*. 58, 823-824.
- 111.- Woldringh, C.L. & Woutera van Iterson ( 1972). Effects of Treatment with SDS on the Ultraestructure of *E. coli*. *J.- Bacteriol*. 111, 801-813.
- 112.- Wurtz-Arlet, J. (1964). Disappearance of fetergents in algae cultures. 4 International Congress on Surface Activity, Brussels Gordon and Breach, London, 1967, 3, 937-943.